ANNALES
DE
PARASITOLOGIE
HUMAINE ET COMPARÉE

DIRECTEUR :
Professeur E. BRUMPT

SECRÉTAIRE GÉNÉRAL :
M. LANGERON

Tome XVIII. — 1941

MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

ANNALES DE PARASITOLOGIE
HUMAINE ET COMPARÉE

TOME XVIII 1941 Nos 1-2-3

MÉMOIRES ORIGINAUX

UNE NOUVELLE COCCIDIE INTESTINALE DU GENRE *ISOSPORA*

Par G. LAVIER

J'ai eu l'occasion, il y a quelques mois, grâce à l'obligeance du Professeur E. Brumpt d'examiner les protozoaires parasites intestinaux de 19 *Bufo viridis* qu'il avait ramenés de Syrie.

Tous présentaient des *Trichomonas* (2 ou même peut-être 3 espèces différentes) ; 3, un *Embadomonas* ; 12, des *Hexamita* et *Syndyomita* ; 5, des Opalines ; 2, un *Nyctotherus* ; enfin 5 individus (soit le quart) me montrèrent les oocystes d'une *Isospora*. Sur ces cinq derniers, trois avaient une infestation assez discrète par la coccidie, mais deux étaient assez abondamment parasités pour en permettre l'étude. Il s'agit d'une espèce nouvelle que je nommerai *Isospora brumpti*.

Sporulation.

Les oocystes tels qu'ils se présentent dans le contenu intestinal (*a*, *b*, *c*, fig. 1) sont de forme ovoïde, mesurant de 20 μ à 25 μ de longueur sur 11 μ à 17 μ de largeur, avec maximum de fréquence pour 24 μ × 16 μ ; l'indice de forme (quotient de la largeur par la longueur) oscille entre 0,59 et 0,72. La paroi oocystique est incolore et lisse, présentant une seule couche relativement épaisse (0 μ 3-0 μ 5

environ). Le contenu est formé par une masse de granules réfringents de diamètre assez modeste, montrant déjà le rassemblement en sphère qui précède la segmentation ; un certain nombre d'oocystes ont même deux sporoblastes formés ; ce cas, exceptionnel chez un de nos deux crapauds bien infectés, était au contraire la règle pour l'autre et il s'agit là évidemment de différences dans la vitesse de transit intestinal. La segmentation des oocystes prélevés dans le contenu intestinal peut être suivie facilement suivant la technique habituelle de mise en culture dans la solution aqueuse d'acide chro-

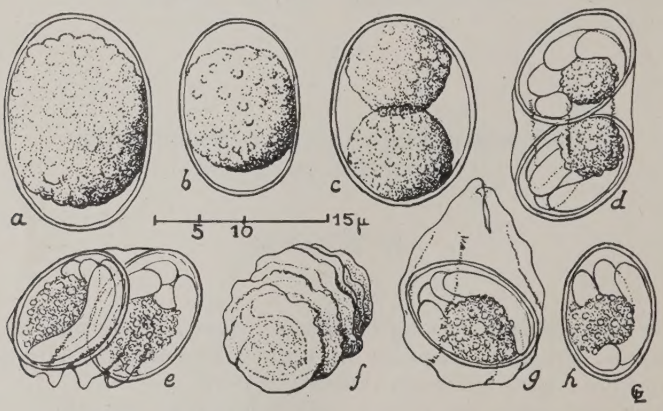


Fig. 1. — Sporulation d'*Isospora brumpti*. — *a*, *b*, *c*, l'oocyste tel qu'il se présente dans le contenu intestinal ; *d*, segmentation achevée ; noter l'amincissement de la membrane et l'apparition de quelques plis ; *e*, plissement en accordéon de la membrane oocystique ; *f*, vue de la surface de la membrane plissée en accordéon ; *g*, paroi oocystique présentant une fente polaire par où s'est échappé un sporocyste ; *h*, sporocyste libre tel qu'on en rencontre dans le liquide de culture.

mique à 5 pour 1.000. En partant des oocystes non segmentés, on voit qu'après 24 heures les deux sporoblastes sont présents chez tous, sans reliquat oocystique et qu'après 48 heures la formation des sporozoïtes est terminée. Pour les oocystes qui possédaient déjà deux sporoblastes, le temps est naturellement plus court et après 36 heures, la sporulation est achevée.

Un phénomène curieux se passe pendant cette segmentation, c'est l'amincissement progressif de l'enveloppe oocystique ; celle-ci se réduit alors à une mince couche refoulée par la pression des sporo-

cystes, s'étranglant entre les deux spores (*d*, fig. 1) et présentant très fréquemment des replis réalisant souvent le type « accordéon » (*e*, *f*, fig. 1). Cela peut aboutir même à la rupture de la paroi suivant une fente transversale par où s'échappe un des deux sporocystes (*g*, fig. 1). Il y a là quelque chose d'identique à ce qu'a observé Hoare chez *Isospora dirumpens* de *Bitis arietans* et qui se passe aussi, ainsi que je l'ai décrit précédemment chez *Isospora fragilis* (Léger) de *Vipera aspis* ; mais dans ces deux derniers cas, le phénomène se passait dans l'intestin même de l'animal parasité dans la profondeur duquel s'effectue la segmentation ; ici, il se passe dans le milieu extérieur et, dans le liquide de culture, on peut trouver des sporocystes isolés (*h*, fig. 1) ; le déterminisme de libération réside donc purement dans la coccidie et l'on ne saurait faire intervenir l'action mécanique du bol alimentaire.

Les sporocystes, ellipsoïdes, mesurent de 15 μ à 19 μ de longueur sur 10 μ à 14 μ de largeur (indice de forme : 0,63-0,77). Ils contiennent quatre sporozoïtes arqués en banane mesurant environ 13 μ de longueur sur 3 μ de diamètre, avec un assez important reliquat granuleux généralement assemblé en sphère, rarement dispersé et s'insinuant entre les sporozoïtes. La paroi est nette et son épaisseur, de 0 μ 3-0 μ 4 environ est sensiblement celle que présentait la paroi oocystique avant la segmentation. Ainsi, quand la segmentation est achevée si l'oocyste est devenu fragile, le sporocyste, lui, est bien résistant. Les sporocystes ne sont pas disposés transversalement comme c'est souvent le cas chez les *Isospora*, mais très obliquement par rapport à l'axe de l'oocyste; leurs deux axes ne sont d'ailleurs pas parallèles. Cette position, comme l'évolution de la paroi oocystique, sont en fonction du volume des spores : si l'on jette un coup d'œil sur les dimensions que j'ai données plus haut, on voit que même la plus petite dimension du sporocyste, la largeur, dépasse la moitié de la plus grande dimension de l'oocyste, la longueur; il en résulte que l'accommodement de spores de cette taille serait impossible sans augmentation des dimensions primitives de l'oocyste ; cette augmentation est réalisée par la plasticité de la paroi; mais celle-ci est-elle une qualité passive conséquence de la pression exercée par des spores trop volumineuses ? ou bien est-elle primitive et permet-elle ainsi secondairement à la spore d'acquérir des dimensions anormales? il est bien difficile de le dire. Ce curieux problème biologique se pose de même pour les autres espèces d'*Isospora* dont j'ai parlé plus haut et qui présentent aussi ce phénomène de rupture, simple aboutissement de la lutte entre le contenant et le contenu.

Formes intracellulaires.

Les formes intracellulaires de cette coccidie se rencontrent dans l'épithélium intestinal où elles occupent une situation peu profonde, entre le noyau et le plateau ; c'est surtout dans les premiers segments de l'intestin grêle qu'elles sont fréquentes mais l'infestation peut s'étendre bien plus loin en aval.

Le plus jeune schizonte que j'ai rencontré mesurait 14 μ de longueur sur 3 μ de largeur et présentait encore l'aspect général d'un mérozoïte (pl. I, fig. 1). Le schizonte en grandissant conserve d'ailleurs une forme allongée ; les divisions nucléaires se multiplient aboutissant à la formation de 12 à 14 mérozoïtes arqués avec une des extrémités aiguë ; ils mesurent 12 μ-14 μ de longueur sur 3 μ de diamètre ; ils sont serrés les uns contre les autres dans une vacuole avec un discret reliquat. Mais très fréquemment, on trouve dans une vacuole unique un nombre bien plus élevé (jusqu'à une cinquantaine) de mérozoïtes qui manifestement sont répartis en plusieurs groupes (pl. I, 7) ; ils sont alors d'une taille inférieure à celle qui a été mentionnée plus haut. L'étude des coupes montre qu'il y a bien en effet plusieurs masses en schizogonie (pl. I, 5 et 6), de deux à quatre en général. On pourrait penser à une infestation simultanée de la même cellule par autant de mérozoïtes, mais je ne crois pas que ce soit là la réalité, et cela pour deux raisons : tout d'abord la grande fréquence de ces schizogonies multiples, dans des infections qui sont loin d'être massives est hors de proportion avec les probabilités de pénétrations simultanées, phénomène possible mais tout fortuit alors que l'énorme majorité des cellules épithéliales reste indemne ; ensuite, ces masses en division ont toujours entre elles des rapports bien nets : elles sont très rapprochées, presque en contact, se moulant parfois l'une sur l'autre sans cependant se confondre ; elles sont enfin *toujours situées dans une unique vacuole commune*, alors que la cellule qui les contient est de dimensions relativement très grandes. Je pense par suite que l'on doit attribuer à ces masses une origine commune par une ou deux divisions préliminaires complètes du schizonte primitif ; ces masses sont en somme de véritables cytomères formés par dupli- ou quadruplication du schizonte. La schizogonie se fait donc, alors, en deux temps. Je n'ai pas eu la chance, il est vrai, de rencontrer dans mes coupes la mitose préliminaire, mais j'ai à diverses reprises observé l'aspect représenté par la figure 8 (pl. I) où l'on voit dans la même vacuole, serrés l'un contre l'autre deux éléments dont la morphologie rappelle, à ce détail près qu'il n'y a pas d'extrémité aiguë, celle du

jeune schizonte ; j'ai rencontré en outre des formations analogues, à quatre éléments de même aspect quoique de taille un peu moindre. Ce sont ces cytomères qui vont ensuite par leur division donner autant de groupes de mérozoïtes. Il est vraisemblable que ce sont les grands mérozoïtes qui sont susceptibles, suivant l'importance de leur masse de donner deux ou quatre cytomères dont la schizogonie aboutira à des mérozoïtes de petite taille ; ceux-ci donneront ensuite directement un groupe unique de mérozoïtes dont la taille se trouvera ainsi augmentée. On aurait en somme un mécanisme de régulation empêchant les dimensions de varier dans une trop grande amplitude.

Telle est l'explication qui me paraît la plus sûre des aspects que j'ai observés. Un tel processus n'a jamais été signalé, il est vrai, chez les *Isospora* ni même chez des *Eimeriidæ*, mais il est bien connu chez d'autres Coccidies et en particulier chez les *Caryotrophidæ* ; chez ces dernières, le schizonte donne d'abord un certain nombre de masses uninucléées qui restent groupées ; ce sont les schizontoblastes ou cytomères dont chacun donne par division un grand nombre de mérozoïtes. Il n'est pas impossible d'ailleurs que ce que je viens de décrire chez *Isospora brumpti* existe aussi pour d'autres espèces du même genre. Ce qui me le fait penser, c'est que j'ai relevé dans la littérature quelques remarques susceptibles de la même explication : Wenyon (1923) dans sa description minutieuse d'*Isospora felis* note (p. 250) que la schizogonie donne en général 8 mérozoïtes, mais que parfois il y en a moins (voir sa fig. 16, pl. I, qui en montre 3) ; dans certains cas, il y en a 2 *in a single vacuole* mais il pense qu'il s'agit alors d'une infestation simultanée par 2 mérozoïtes ; en outre il y a des cas où le nombre est bien plus élevé que 8, atteignant souvent 16 et l'ayant même dépassé une fois. Ray et Das Gupta, ont vu parfois chez *Isospora wenyoni* (qui comme la nôtre est un parasite de crapaud) deux formations accolées dans la même cellule, et la figure qu'ils donnent montre qu'elles sont situées dans la même vacuole ; cette figure ressemble d'ailleurs singulièrement à notre figure 8 (pl. I). L'explication des deux auteurs est la même que celle donnée précédemment par Wenyon : ce seraient 2 mérozoïtes ayant pénétré indépendamment ; dans ce cas, disent-ils, la schizogonie donne l'impression qu'il y a plus de 16 mérozoïtes formés et ceux-ci sont alors plus petits. J'ai dit plus haut pourquoi l'explication par une infestation double ne me paraissait pas satisfaisante et je crois que de nouvelles recherches sur ces *Isospora*, et peut-être encore sur d'autres, appuieront l'interprétation que j'ai donnée ici des faits observés pour *Isospora brumpti*.

Les microgamétocytes, indistinguables au début des jeunes schi-

zontes deviennent en grandissant aisément reconnaissables par les divisions nucléaires qui se font activement à leur surface ; ces mitoses peuvent être observées le plus fréquemment à la télophase qui doit donc être le stade de plus longue durée ; on voit alors bien les chromosomes fins et relativement allongés mais agglomérés de façon assez serrée de telle sorte qu'on n'en peut observer le nombre avec certitude ; il paraît être de 6 à 8. Le gamétocyte d'abord très allongé diminue de longueur en augmentant de largeur (11, pl. I) et est ovoïde quand les gamètes sont achevés. Ses dimensions sont alors d'une vingtaine de μ de longueur sur une douzaine de largeur.

Le jeune macrogamète se reconnaît à son cytoplasme qui ne tarde pas à se charger de réserves, mais il a encore la forme du mérozoïte ; l'extrémité aiguë en est encore présente, tendant à se recourber en courte queue (13, pl. I). Ce processus est d'ailleurs reconnaissable, quoique plus court et plus trapu chez certains macrogamètes âgés. Cette disposition a été observée chez d'autres *Isospora*, particulièrement dans les espèces auxquelles nous avons déjà fait allusion plus haut. Pour *I. felis*, Wenyon a noté ces formes qu'il appelle *rounded up* ; et chez *I. wenyoni*, Ray et Das Gupta observent que l'extrémité postérieure du macrogamète est légèrement repliée sur elle-même comme s'il y avait une courte queue. C'est donc là une disposition habituelle dans le genre. Le macrogamète en accroissant sa taille reste longtemps allongé, « grégariniforme » ; il peut alors présenter une longueur dépassant de beaucoup celle qu'aura l'oocyste (14, pl. I). Ce n'est qu'à la maturité qu'il va se raccourcir et s'élargir pour atteindre aux dimensions et à la forme définitives (15, pl. I). Je ne puis dire si cette évolution se fait après ou avant fécondation ; je n'ai pas non plus observé le fuseau de fertilisation sur lequel ont insisté Ray et Das Gupta. L'aspect allongé du macrogamète pendant sa période de croissance a été noté déjà pour *Isospora felis* par Wenyon qui y voit un trait d'affinité avec les grégarines.

*
* *

Telles sont les formes que j'ai observées dans l'évolution d'*Isospora brumpti* ; on voit l'intérêt que présente cette espèce nouvelle, tant dans la curieuse transformation de sa paroi oocystique que dans son mode de schizogonie.

La littérature ne mentionne que 2 *Isospora* de crapauds. La première est signalée brièvement et sans nom spécifique par Wenyon (1926) dans son *Traité*. Cette *Isospora sp.* a été rencontrée chez le crapaud commun d'Angleterre et son oocyste mesure environ 25 μ. Il

pouvait donc s'agir de la même espèce. Mais les dessins qu'en donne Wenyon (fig. 352, p. 826) montrent un oocyste après segmentation ; les sporocystes qui mesurent (calculé d'après le grossissement indiqué) 15 μ × 10 μ, pour un oocyste de 25 μ de longueur sont relativement bien plus petits que ceux d'*I. brumpti*, chez qui les oocystes de 25 μ ont des sporocystes de 19 μ × 14 μ ; en outre, détail important, la paroi oocystique a conservé la même épaisseur qu'avant segmentation (ce qui, pour les raisons que nous avons exposées au début, est en liaison avec la taille plus petite des spores). Il s'agit donc bien d'une espèce différente. J'ai tenté d'ailleurs une expérience, unique, il est vrai, d'infestation de *Bufo vulgaris* par *Isospora brumpti* : un crapaud a ingéré à la pipette une quantité considérable d'oocystes segmentés ; 8 jours plus tard il n'avait montré aucune infestation et une recherche attentive n'a pas permis de rencontrer à l'autopsie de formes coccidiennes intracellulaires.

La seconde espèce que mentionne la littérature est *Isospora wenyoni*, décrite par Ray et Das Gupta (1935) chez *Bufo melanostictus* et à laquelle j'ai eu plusieurs fois à faire allusion. La différence de taille est ici péremptoire : l'oocyste mesure de 16 μ à 20 μ sur 11 μ à 14 μ ; les sporocystes 8 μ × 4 μ. Sont encore à noter la lenteur plus grande de segmentation (3 jours) et sa rareté (2 crapauds infectés seulement sur plusieurs centaines examinées). Mais s'il s'agit bien sans contestation possible de deux espèces différentes, il y a néanmoins entre elles beaucoup d'affinité. Ray et Das Gupta ont chez *I. wenyoni* signalé un curieux détail ; chaque mérozoïte porte à son extrémité antérieure deux lames hyalines entre lesquelles existe un espace chromophile à fonction contractile. Je n'ai rien vu de pareil chez *I. brumpti* et rien d'analogue n'est connu chez d'autres coccidies sauf chez *Eimeria laminata* décrite par un des mêmes auteurs chez le même hôte ; cette coïncidence ne manque pas d'être singulière pour deux espèces d'un genre différent ; aussi me paraît-il prudent d'en attendre confirmation (1).

En dehors des crapauds, on sait que d'autres Amphibiens peuvent héberger des *Isospora*. On connaît de longue date *Isospora lieberkühni* de *Rana*, de taille considérable et dont la schizogonie s'effectue

(1) J'ai eu l'occasion en étudiant les flagellés contenus dans des frottis effectués avec le contenu rectal d'un *Bufo calamita* provenant de Roscoff (Finistère) d'observer les sporocystes entièrement segmentés d'une *Isospora*. L'enveloppe oocystique ne paraissait pas avoir été rompue ; les dimensions des sporocystes, compte tenu de la rétraction provoquée par le fixateur, étaient d'environ 7 μ sur 5 μ, ce qui différencie cette *Isospora* de celle de Wenyon et de *I. brumpti* et la place au voisinage de *I. wenyoni*.

dans le rein. *Isospora neos* Yakimoff et Gousseff, 1936 de *Rana arvalis* a un oocyste sphérique ou subsphérique. C'est surtout chez les *Hylidæ* que l'on a décrit des *Isospora* intestinales : *Isospora hylæ* Mesnil 1907 est de taille bien plus considérable que la nôtre. Plus voisine est *Isospora cruzi* Pinto et Vallim 1926 de *Hyla crospedospila*, redécrite avec plus de détail par Carini (1937) qui l'a rencontrée également chez *Hyla nasica*, *H. fuscovaria* et surtout *H. rubra* ; ce sont toutes là des rainettes brésiliennes ; mais avec cette espèce doit tomber en synonymie *Isospora wladimirowi* Yakimoff 1930 de *Hyla arborea*. *Isospora cruzi* est de taille légèrement plus petite que *I. brumpti*, ses oocystes mesurant d'après Carini de 20 à 22 μ de longueur sur 17 à 18 μ de largeur en moyenne ; les spores sont également plus petites (14 × 10 μ en général) ; mais le fait intéressant que signale Carini c'est que ces spores distendent la paroi oocystique et en déterminent la rupture amenant ainsi leur libération ; il y a donc dans cette espèce un phénomène analogue à celui que nous avons vu pour le parasite de *Bufo viridis*.

Bibliographie

Carini (A.). — *Isospora cruzi*, parasita dell' intestino di alcune ile del Brasil. *Arch. de Biol.*, 1937, p. 106.

Lavier (G.). — Description d'*Isospora fragilis* L. Léger 1904, coccidie intestinale de *Vipera aspis*. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, XXXIV, 1940, pp. 25-30.

Hoare (C. A.). — Studies on some new ophidian and avian Coccidia with a Revision of the Classification of the *Eimeriidea*. *Parasitology*, XXV, 1933, p. 359.

Ray (H.) et Das Gupta (M.). — On a new Coccidian, *Isospora wenyoni n. sp.*, from the intestine of indian toad, *Bufo melanostictus*. *Arch. f. Protistenk.*, LXXXVI, 1935, p. 219.

Wenyon (C. M.). — Coccidiosis of Cats and Dogs, and the status of the *Isospora* of Man. *Ann. of trop. Med. and Parasitol.*, XVII, 1923, p. 231.

— *Protozoology*, Londres, 1926, t. II.

Yakimoff (W. L.). — Neue Coccidien der Frösche in Nordkaukasus. *Arch. f. Protistenk.*, LXX, 1930, p. 639.

Yakimoff (W. L.) et Gousseff. — Eine neue Kokzidie des Frosches. *Zentralbl. f. Bakt.*, I (Or.), CXXXVIII, 1936, p. 43.

Travail de l'Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris (Directeur : Professeur Émile Brumpt).

Formes intracellulaires d'*Isospora brumpti*. — 1, jeune schizonte; 2, schizonte en division; 3, division en 12 mérozoïtes dont 6 seulement figurent sur la coupe; 4, mérozoïte; 5, schizogonie en deux masses; 6, schizogonie en quatre masses dont une a donné déjà les mérozoïtes; 7, schizogonie ayant donné une cinquantaine de mérozoïtes dont 30 seulement visibles sur la coupe; on voit qu'il y a eu manifestement plusieurs masses en division; 8, deux cytomères; 9, quatre cytomères en coupe oblique; 10, 11, 12, microgamétocyte; 13, jeune macrogamète; 14, accroissement en longueur du macrogamète; 15, deux macrogamètes mûrs, ovoïdes.

Mission E. BRUMPT et L. Ch. BRUMPT en Colombie et au Venezuela (1).

V. — OBSERVATIONS BIOLOGIQUES DIVERSES CONCERNANT *PLANORBIS* (*AUSTRALORBIS*) *GLABRATUS* (2) HOTE INTERMÉDIAIRE DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

Par E. BRUMPT

Sommaire

Introduction 10
Biologie de *Planorbis glabratus* 11
Habitat. Conditions déterminantes 11
Résistance à l'eau de mer 11
Résistance à la chaleur et au froid 12
Résistance à la dessiccation. Anhydrobiose provoquée 13
Moindre résistance des planorbes parasités 14
Élevages 15
Érosion de la coquille 17
Reproduction 19
Accouplement 19
Autofécondation 20
Ponte. Conditions déterminantes 25
1. Facteurs physiques 28
Lumière et rythme nocturne 29
Volume d'eau 30
2. Facteurs chimiques 30
3. Facteurs biologiques 30
Influence du parasitisme 30

(1) Nous adressons nos bien sincères remerciements et l'expression de notre vive reconnaissance à M. le Dr Julio Garcia Alvarez, Ministre de la Santé publique du Venezuela, qui nous a donné toutes les facilités pour effectuer diverses enquêtes épidémiologiques dans plusieurs régions des États-Unis du Venezuela, en attendant la possibilité de nous embarquer pour la France, le 9 novembre 1939.

(2) L'identité du *Planorbis glabratus* Say 1818 et du *Planorbis guadeloupensis* Sowerby 1821 a été établie par Pilsbry en 1934. A notre grand regret, le nom de *guadeloupensis*, connu de tous les médecins et qui devrait bénéficier de la prescription, doit disparaître par application de la loi de priorité de la nomenclature zoologique.

Annales de Parasitologie, t. XVIII, nos 1-2-3. — 1941, p. 9-45.

Fécondité 33
Fertilité 33
Développement et croissance 34
Nombre de générations annuelles 35
Rôle pathogène 35
Destruction des planorbes 39
Résumé 41

INTRODUCTION. — La prophylaxie de la bilharziose intestinale due à *Schistosoma mansoni* serait très facile s'il était possible d'empêcher les déjections humaines, renfermant les œufs de ce redoutable parasite, de souiller les collections d'eau où vivent les planorbes chez lesquels s'effectue l'évolution larvaire de ce trématode. Dans la pratique et en dépit de la propagande des hygiénistes, il est impossible d'interdire aux ouvriers agricoles des régions tropicales de déposer leurs déjections dans les plantations où ils travaillent et d'où les averses tropicales les entraînent dans les canaux de drainage où abondent les mollusques pathogènes.

D'autre part, comme le traitement des sujets malades n'a encore donné que de médiocres résultats, tout au moins en ce qui concerne la prophylaxie de la bilharziose, c'est certainement à la lutte contre les mollusques qu'il faut s'attacher pour assurer la disparition de cette infection.

C'est dans cette intention que nous croyons utile de publier un certain nombre d'observations sur la biologie de *Planorbis glabratus* qui semble être le seul vecteur de la bilharziose intestinale en Amérique. Les autres espèces de planorbes américains, hôtes intermédiaires de *S. mansoni*, n'étant d'après Vianna Martins (1) que des variétés de cette espèce.

Ce gros planorbe, qui s'infecte parfois expérimentalement dans 100 pour 100 des cas, peut présenter une semblable infection dans la nature. C'est ainsi que sur 40 exemplaires provenant d'un bassin du Square Pichon et récoltés en février et mars 1923 à mon intention par le Dr H. Cabre, j'en ai trouvé 40 présentant les furcocercaires de *Schistosoma mansoni*. Le taux d'infestation varie probablement suivant les saisons et surtout suivant le degré de contamination accidentelle de l'eau par les déjections humaines, car, dans le même bassin du Square Pichon, l'infestation ne dépassait pas 30 0/0 pour les animaux adultes, lors de nos récoltes en juillet 1939.

(1) Vianna Martins (1938) donne comme synonyme de *Planorbis glabratus* (*guadeloupensis*) Say 1818, les espèces suivantes : *P. centimetralis* Lutz 1918 ; *P. immunis* Lutz 1918 ; *P. nigricans* Spix 1817 et *P. olivaceus* Spix 1821.

Biologie de *planorbis glabratus*

HABITAT. CONDITIONS DÉTERMINANTES. — Ce planorbe se rencontre de préférence dans des canaux naturels ou artificiels à eau douce plus ou moins pure, à peine courante, souvent souillée par des déjections humaines, comme c'est le cas en particulier à la Guadeloupe, dans les faubourgs de Pointe-à-Pitre, où la végétation aquatique macroscopique est absente, mais où des algues vertes microscopiques abondent sur les objets les plus variés jetés par les ménagères dans le canal égout situé à la porte de leur maison (fig. pl. I). En compagnie du médecin commandant Jolly nous avons pu récolter des centaines de planorbes dans les canaux qui abondent dans cette région de la ville. A la Guadeloupe, nous avons encore récolté ces mollusques en abondance à Basse-Terre, dans des bassins en ciment dépourvus de végétation et à eau dormante du square Pichon. Au Venezuela, dans la vallée de Caracas, en compagnie du Dr Scott, puis du Dr David Iriarte, nous les avons trouvés dans les mêmes conditions qu'à la Guadeloupe, ainsi que sur les parois d'un canal d'irrigation à bords cimentés, où l'eau circulait avec rapidité. Signalons cependant que dans ce dernier habitat, les mollusques étaient isolés et rares, tandis que dans les canaux à fond de terre argileuse, où l'eau était plus ou moins stagnante, on pouvait en récolter des centaines en peu de temps. Au Venezuela, ni dans la rivière de Villa de Cura, ni dans la rivière de Consejo, nous n'avons pu récolter ce planorbe, alors que les petits canaux de drainage qui se jetaient dans ces rivières en hébergeaient des quantités.

Comme la plupart des grands planorbes, cette espèce vient flotter assez rapidement à la surface de l'eau quand on agite les végétaux ou les supports sur lesquels elle se trouve. Cette expérience permet de déceler à coup sûr sa présence. Au laboratoire, dans les élevages entretenus à la température de 25° C., l'agitation de l'eau ne fait tomber au fond de la cuve que 30 p. 100 environ de ceux qui nagent en surface ou qui broutent des feuilles de salade, ce qui tient à l'expulsion rapide de l'air accumulé dans la cavité palléale. A la température de 32 ou 37°, les animaux restent presque tous à la surface, même après agitation de l'eau.

Résistance à l'eau de mer. — Contrairement aux autres espèces de planorbes, *P. glabratus* peut vivre exceptionnellement dans des eaux saumâtres ; c'est ainsi qu'Hoffman et Faust (1934) ont pu y constater sa présence dans un faubourg de San Juan, à Puerto-Rico, ainsi

que dans l'île de Vicques. Malheureusement, ces auteurs n'ont pas donné la teneur en sel des gîtes observés par eux.

Comme l'eau de mer peut être éventuellement utilisée comme moyen chimique de destruction des planorbes pathogènes vivant dans des régions littorales, nous avons entrepris quelques études sur ce sujet à Paris, en employant de l'eau de mer artificielle. Il résulte de nos expériences (166/XXVIII) que *P. glabratus* ne peut vivre dans un mélange renfermant plus de 25 p. 100 de cette eau de mer, même en procédant par addition progressive pendant plusieurs jours. Cependant, si des mollusques intoxiqués, ayant leur corps congestionné, sorti de la coquille et paraissant sur le point de succomber, sont remis dans l'eau douce, ils reprennent leur aspect et leur existence ordinaires et pondent deux semaines plus tard (Expérience 225/XXVIII). Dans l'eau à 20 p. 100 d'eau de mer artificielle, les planorbes ne se nourrissent plus et ne pondent pas mais ils peuvent vivre parfois 35 jours.

Les pontes déposées en eau douce et placées dans l'eau à 25 p. 100 d'eau de mer n'évoluent pas.

Résistance à la chaleur et au froid. — Dans la nature, *Planorbis glabratus* supporte pendant un temps plus ou moins long, dans la journée, dans les collections d'eau exposées au soleil, une température qui souvent doit s'élever au-dessus de 37° C. Mais pendant la nuit ou quand les mares sont ombragées pendant une partie du jour, la température descend aux environs de 25° et les animaux peuvent ainsi se remettre de l'excès de chaleur qu'ils ont supporté. Au laboratoire, une température constante de 37° C. (Expérience 226/XXVIII), même lorsque les planorbes y ont été habitués progressivement, tue ces animaux en 3 ou 4 jours. A une température continue de 32°-33°, les animaux souffrent encore, mangent très peu et ne pondent plus. Par contre, le séjour à 33° ou à 37° pendant quelques heures chaque jour permet à ces mollusques de vivre normalement et de déposer quelques pontes.

Les planorbes émettant des cercaires sont beaucoup plus sensibles à l'action de la chaleur solaire que les spécimens neufs.

Le froid (Expérience 224/XXVIII) que *P. glabratus* a rarement l'occasion de subir, étant donné sa distribution géographique, est très mal supporté. Des exemplaires de tout âge, mis progressivement à la température de 4°-5° C. succombent en 4 ou 5 jours. Dans les élevages, la température optima est de 25° à 30° C. A 10° C., les animaux vivent mais ne s'alimentent pas, et, fait curieux à observer, ils se groupent en amas volumineux pour des raisons physiques difficiles à déterminer. A 15° C., ils s'alimentent beaucoup moins qu'à des tempéra-

tures plus élevées, mais on n'observe aucune mortalité ce qui permet de constituer des réserves importantes d'animaux en vue de leur utilisation au fur et à mesure des besoins.

Résistance à la dessiccation (1). **Anhydrobiose provoquée.** — *Planorbis glabratus* supporte fréquemment la mise à sec des canaux de drainage ou d'irrigation dans les plantations et nous avons obtenu une reviviscence de 25 p. 100 de ces mollusques sur 192 spécimens récoltés dans un canal d'irrigation de Villa de Cura (Venezuela), exposé au soleil et entièrement desséché (fig. 3, pl. I) depuis plus d'une semaine. D'autre part, sur 95 (2) spécimens d'assez petite taille, mis en état d'estivation ou plutôt d'anhydrobiose artificielle sur un fond d'argile, emportés dans de l'argile craquelée et sèche de Caracas, le 6 novembre, et remis dans l'eau à Paris le 4 décembre (soit 28 jours plus tard), 30 étaient encore vivants et ont pondu peu de jours plus tard, mais aucun n'a émis de cercaires de *S. mansoni*, ce qui semble indiquer que, dans ces conditions, les planorbes infectés résistent moins bien que les autres. Les mollusques desséchés mis dans l'eau à 28°-30° C. reprennent leur activité après 1 heure ou 2, rarement après 24 heures.

Au laboratoire, sur 44 planorbes de différentes tailles mis en état d'estivation (Expérience 34/XXVIII) (3), puis remis dans l'eau 50 jours plus tard, 21 avaient résisté à la dessiccation dans des conditions plus sévères que dans la nature où l'humidité du sous-sol, celle de la nuit et des pluies accidentelles empêchent une dessiccation presque

(1) De nombreux mollusques pulmonés terrestres et aquatiques sont susceptibles de rester fort longtemps en état d'anhydrobiose. C'est ainsi que certains mollusques terrestres des genres, *Helix*, *Achatinella*, *Bulimus* ont pu vivre de 5 à 7 ans à l'état latent. Dans le cas des pulmonés aquatiques, la longévité semble beaucoup moins longue dans de semblables conditions. Cependant, on peut affirmer que tous les mollusques trouvés dans des collections d'eau temporaires, non alimentées par les crues des fleuves peuvent vivre sans eau dans la vase ou entre les herbes des fossés pendant toute la saison sèche. En ce qui concerne *Limnaea truncatula*, hôte intermédiaire de *Fasciola hepatica*, nous connaissons en France, à Roscoff et à Carentan, des gîtes totalement à sec pendant au moins six mois chaque année, et, expérimentalement, nous avons conservé en 1919 (Exp. 183/V) deux exemplaires de cette espèce de limnée qui avaient été mis à sec sur de l'argile, en boîte de Pétri, pendant deux mois et demi, date à laquelle l'expérience a pris fin.

(2) Ces 95 planorbes mesurant de 5 à 13 mm., mis dans l'eau le 28e jour, se répartissaient ainsi d'après leurs dimensions :

65 morts : 4 de 13 mm. ; 15 de 9 mm. ; 15 de 8 mm. ; 15 de 7 mm. ; 16 de 5 mm.

30 vivants : 1 de 13 mm. ; 6 de 9 mm. ; 9 de 8 mm. ; 5 de 7 mm. ; 9 de 5 mm.

Ces chiffres permettent de croire que les jeunes échantillons en état d'anhydrobiose sont plus résistants que les gros.

(3) Sur 25 *Planorbis planorbis* (Linné) 1758, dont nous devons la détermination à R. Ph. Dollfus, mis en état d'anhydrobiose artificielle et conservés dans la même armoire que les *P. glabratus* de l'expérience 34/XXVII, 7 ont repris leur vie normale 79 jours après le début de l'expérience.

complète comme celle obtenue au laboratoire dans un cristallisoir de verre. Il est donc probable que dans la nature ces planorbes, lorsqu'ils sont abrités par la végétation qui croît sur les bords et dans les canaux à sec, peuvent vivre beaucoup plus longtemps. A ce point de vue *Planorbis glabratus* se rapproche beaucoup de *P. boissyi* qui, en Egypte, d'après Barlow (1935) peut résister au moins 2 mois dans des conditions naturelles (fig. 1 et 2, pl. I) sur la vase craquelée des canaux d'irrigation, et parfois 6 mois au laboratoire dans des étuis métalliques renfermant un peu de terre sèche.

Les *Planorbis glabratrus* en état d'anhydrobiose, occupent le fond de leur coquille où leur corps est réduit au sixième ou au septième de son volume normal.

Moindre résistance à la dessiccation des planorbes parasités. — En étudiant le nombre de *Planorbis boissyi* encore parasités après la dessiccation périodique de ces mollusques dans les canaux d'irrigation de la région d'El Marg, aux environs du Caire, Barlow (1935) a constaté que le pourcentage des animaux infectés par les cercaires de *S. mansoni* est inférieur au pourcentage obtenu quelques mois plus tôt chez cette même espèce de mollusque et dans le même gîte. C'est ainsi que sur 69 planorbes récoltés en septembre 1934, cet auteur en rencontre 69,5 p. 100 d'infectés, tandis qu'en janvier 1935, sur 199 planorbes récoltés au même endroit et encore vivants, 9 p. 100 seulement étaient positifs, et leur infection avait résisté de 21 à 33 jours à la dessiccation de leur gîte. Comme Cort (1920) dans le cas de *Schistosoma japonicum* et d'*Oncomelania nosophora*, Barlow admet que cette réduction du nombre de mollusques infectés tient d'une part à une action défavorable de la dessiccation sur les formes évolutives des schistosomes, d'autre part à la mortalité plus grande des mollusques parasités.

Nos observations et nos expériences nous permettent d'affirmer le rôle nocif de la dessiccation sur les mollusques parasités et sur les parasites. L'action néfaste des formes larvaires de schistosomes sur les mollusques est certaine, même en dehors des conditions expérimentales toujours plus sévères que les conditions naturelles. C'est ainsi que sur plus de 150 *Planorbis glabratus* récoltés à la Guadeloupe le 22 juillet 1939, infectés dans la proportion de 30 p. 100 environ, et examinés en Colombie le 14 août 1939, les seuls survivants, au nombre de 30, étaient tous indemnes d'infection.

Au laboratoire, nous avons effectué les expériences suivantes :

Expérience 141/XXVIII. — Six planorbes infectés le 19 mars 1940 et ayant des lésions tentaculaires très nettes le 7 avril, sont placés dans des

boîtes de Pétri, sur de la terre glaise recouverte d'une mince couche d'eau. Le 13 avril, l'eau s'est évaporée et les mollusques se sont retirés au fond de leur coquille ; le 26 avril, soit treize jours plus tard, ils sont placés dans l'eau à 25° et en quelques heures, tous reprennent leur vie normale et mangent de la salade. Seul, un exemplaire montre encore les lésions tentaculaires qui ont disparu chez les autres, ce qui semble établir l'action nocive de l'anhydrobiose sur les formes larvaires des schistosomes. Par suite de la perte de documents divers, lors de l'évacuation du laboratoire, le 11 juin 1940, il nous est impossible de donner avec certitude les résultats ultérieurs. Cette expérience sera reprise d'ici peu.

Expérience 290/XXVIII. — Le 27 avril 1940, quinze planorbes infectés du 8 au 13 avril avec un broyat d'organes du hérisson 1035/XXVII, et montrant de fortes lésions tentaculaires parfois bilatérales, sont mis en boîte de Pétri sur de l'argile recouverte d'eau. Le 29, l'argile est sèche et les mollusques retirés au fond de leur coquille sont conservés à 18-22° C. Le 31 mai, 32e jour de l'expérience, les mollusques sont remis dans l'eau à 30° et en quatre heures cinq mollusques rampent dans le bocal ; les dix autres sont morts. Les tentacules présentent des lésions beaucoup plus réduites qu'au début de l'expérience. Le 3 juin, les animaux sont isolés en tube Borrel pour étudier la suite de l'évolution des parasites. Les documents concernant la suite de l'expérience ont été perdus, mais des recherches nouvelles seront entreprises d'ici peu, car nous conservons toujours au laboratoire un important élevage de planorbes et de souris infectées (1).

Expérience 481/XXVIII. — Huit planorbes ayant des infections tentaculaires et émettant des cercaires depuis trois ou quatre jours, sont mis à sec dans les conditions habituelles, le 16 mai. Le 3 juin, dix-huit jours plus tard, ils sont placés dans l'eau à 30°, mais aucun n'a survécu alors que sur les 21 mollusques témoins (481'/XXVIII) un seul est mort.

Expérience 492/XXVIII. — Treize planorbes, de l'expérience 216/XVIII, sans lésions tentaculaires mais émettant quelques cercaires depuis trois ou quatre jours, sont mis à sec du 15 au 18 mai. Le 3 juin, soit treize jours plus tard, tous sont morts, alors que les témoins neufs (481'/XXVIII) traités de la même façon, sortent de leur torpeur en quelques heures à l'exception d'un seul spécimen.

ÉLEVAGES. — Au cours de ces recherches, nous avons utilisé nos procédés habituels (6, pl. I). Les animaux sont élevés en commun dans des cuves de verre de 8 litres d'un diamètre de 28 cm., à demi remplies d'eau et dans des cuves de 5 litres, d'un diamètre de 18 cm., renfermant 3 litres d'eau. Les animaux destinés à l'étude de l'autofécondation ou surveillés après avoir été infectés par *Schistosoma*

(1) Nous avons pu poursuivre les diverses études biologiques exposées dans ce travail grâce à la bonne collaboration technique de Mlle Yvonne Campana, à laquelle nous adressons nos plus vifs remerciements.

mansoni sont conservés dans des tubes de verre cylindriques (tubes Borrel) d'un diamètre de 4 cm., d'une hauteur de 9 cm. et renfermant 80 cm^3 d'eau.

L'eau potable de Paris est généralement défavorable pour les élevages, car elle renferme parfois trop de chlore ; par contre l'eau de Seine (pH = 7,1) nous a toujours donné d'excellents résultats pour tous les mollusques dont nous avons tenté l'élevage.

Même quand l'eau est changée chaque jour, nous utilisons certaines mousses, en particulier l'*Amblystegium riparium* qui se développe parfaitement à la température de 25° à laquelle nous faisons nos élevages. Cette plante peut même supporter facilement une température un peu plus élevée et comme elle vit dans la nature et au laboratoire, à des températures très inférieures, elle présente une grande utilité pour tous les élevages d'animaux aquatiques sauf en ce qui concerne l'élevage des voraces ampullaires qui les dévorent. A défaut d'*Amblystegium* on peut employer des confervacées (1), à condition que ces dernières ne se développent pas trop, car elles peuvent alors emprisonner les mollusques.

Nos mollusques ont toujours été nourris avec de la salade crue fraîche ou légèrement macérée dans l'eau. Ils mangent d'ailleurs avec autant d'avidité la salade cuite qui doit être utilisée au cours de certaines expériences afin d'éviter l'introduction de divers germes venus du dehors. Le papier filtre et les grains d'avoine bouillis conseillés par certains auteurs semblent à peu près inutiles, sauf dans le cas où la salade fait défaut.

Même quand l'alimentation est abondante, certains exemplaires de *Planorbis glabratus* dévorent quelques pontes déposées sur les parois des vases, observation facile à faire quand les pontes quotidiennes sont marquées au crayon gras, soit sur les tubes d'isolement, soit sur les grandes cuves. Ces planorbes ne sont pas coprophages, car les déjections humaines ne les attirent pas particulièrement ; ils peuvent ramper sur elles occasionnellement, mais le plus souvent ils les délaissent. Quand ces animaux sont isolés, leur coquille se recouvre presque toujours d'abondantes colonies de vorticelles très appréciées par ces mollusques qui les engloutissent avant tout autre aliment à leur portée quand on les remet en commun.

Les mollusques aquatiques ayant toujours des granules de sable dans leur estomac, nous avons soin de placer un peu de sable très fin dans les bocaux d'élevage afin de remplacer celui qui est éliminé avec les déjections. Tous nos bocaux sont placés sur les rayons de grandes

(1) Celle que nous utilisons appartient au genre *Ædogonium*, d'après la détermination du Dr M. Langeron.

armoires (6, pl. I), bien exposées au midi et chauffées avec des ampoules électriques qui permettent d'entretenir une température moyenne de 25° C. L'élevage à la lumière naturelle se fait mieux qu'à l'obscurité et permet l'aération de l'eau par les végétaux microscopiques, les confervacées et les mousses aquatiques, ce qui évite la perte de temps nécessitée par les changements d'eau.

ÉROSION DE LA COQUILLE. — Les coquilles de *Planorbis glabratus* capturés dans la nature, présentent presque toujours des érosions circulaires ou linéaires qui tranchent par leur couleur nacrée sur le fond olivâtre ou brun de la coquille. Ces érosions sont surtout nombreuses sur les plus anciens tours de la coquille situés au centre de cette dernière, qui est parfois même complètement perforée. Nous avons vu un élevage de *P. glabratus* perforé chez notre collègue R. T. Leiper, de Londres, et nous avons eu l'occasion d'en rapporter un certain nombre, déterminés *P. olivaceus*, de Caracas où ils avaient été récoltés par le Dr David Iriarte qui a bien voulu nous les offrir en octobre 1939. Ces animaux se sont très bien reproduits à notre laboratoire, mais leurs descendants ne présentent que des petites érosions centrales sans perforation.

Ces lésions de la coquille peuvent s'observer également dans les élevages de laboratoire, mais, jusqu'à ce jour, nous ne les avons aperçues que sur les planorbes élevés en commun, comme nous l'avons déjà signalé dans le cas de *Planorbis exustus*. Les animaux isolés dès leur naissance en vue d'étudier l'existence de l'autofécondation, grandissent plus vite que les témoins et ne montrent aucune corrosion, ce qui permet, sinon de donner une explication satisfaisante de ce phénomène, tout au moins de ne pas accepter certaines théories émises, dont un excellent exposé jusqu'en 1927 a été fait par Pilsbry et Bequaert.

Ces érosions de la coquille sont bien connues de tous les malacologistes qui les ont observées presque constamment chez divers bivalves et chez de nombreux gastéropodes aquatiques d'eau douce et marins. Pour Saulcy (1851) et Fisher (1852), ces érosions seraient produites par d'autres mollusques à la recherche de calcaire, mais, comme le font remarquer Pilsbry et Bequaert, cette hypothèse n'est pas valable pour les unionidés et autres bivalves vivant profondément dans la vase. Pour Clessin (1871), la corrosion de la coquille de ces derniers mollusques serait due à l'action chimique du sol agissant sur des points où l'épiderme a été traumatisé par un mécanisme quelconque. Certains auteurs (Shrubsole, 1886, Moynier de Villepoix, 1892, Grier, 1920, Adams, 1927), estiment que les érosions sont impu-

tables à l'habitat des mollusques dans une eau insuffisamment calcaire. Cooper (1910) a noté que le sommet de la coquille de certains gastéropodes (*Lymnæa*, *Bythinia*) contraints de vivre dans l'eau saumâtre, disparaît rapidement. Pilsbry et Bequaert font observer que c'est le cas pour les Mélaniidés et les Cerithidés des estuaires des fleuves africains. Noll (1882) a émis l'hypothèse que ces érosions seraient dues à des algues microscopiques, *Micrococcus conchivorus* qui se développeraient dans la coquille. Bornet et Flahault (1889) ont également trouvé diverses algues et des champignons perforants dans la coquille de mollusques vivants ou morts.

En 1936, nous avons signalé les faits suivants que nos expériences sur *Planorbis guadeloupensis* confirment totalement :

« Mes observations me font admettre que les corrosions de la coquille de *Planorbis exustus* sont dues aux habitudes grégaires des exemplaires de cette espèce qui s'accolent les uns aux autres et broutent les coquilles de leurs congénères qui, une fois altérées, sont peut-être envahies ultérieurement par les microcoques. Un fait certain, c'est que les nombreux exemplaires élevés isolément pour l'étude de l'autofécondation, ne présentent pas de corrosions. Je crois pouvoir éliminer l'action corrosive de l'eau, car tous les élevages de mollusques du laboratoire sont faits dans l'eau de Seine et aucune autre espèce, *Planorbis boissyi* en particulier, ne présente de lésions de la coquille ».

On peut rapprocher les érosions de la coquille des mollusques de celles qui ont été signalées dans des galets calcaires ou dans les travertins attaqués par des algues perforantes. On trouvera dans l'excellent travail déjà ancien de M. Langeron (1902), ainsi que dans ceux de R. Ph. Dollfus (1) (1921) et de Robert Lami (2) (1939), une documentation intéressante sur ce sujet.

Langeron estime que le rôle des algues perforantes du calcaire a été surtout bien compris depuis les travaux de Bornet et Flahault (1889) sur les coquilles cariées, et ceux de Chodat (1897-1898) sur

(1) En 1921, R. Ph. Dollfus estimait qu'il existait environ une douzaine d'algues perforantes marines s'attaquant aux mollusques, aux carapaces des crustacés, à des bryozoaires, à des algues calcaires, à des madrépores et à des roches calcaires. Les plus importantes d'entre elles sont les espèces suivantes : *Hyella coespitosa* Bornet et Flahault ; *Gomontia codiolifera* Chodat (= *G. polyrhiza* auct.) ; *Plectonema terebrans* Born. et Fl. ; *Ostreobium quecketti* Born. et Fl. ; *Mastigocoleus testarum* Lagerheim.

Outre ces algues, il existe aussi des champignons perforants s'attaquant aux coquilles marines : *Ostracoblabe implexa* Born. et Fl. ; *Lithopythium gangliiforme* Born. et Fl. Ces champignons appartiennent à la famille des Saprolégniacées.

(2) En 1939, Robert Lami a donné une liste de 17 espèces d'algues perforantes marines, d'un lichen (*Arthropyrenia litoralis*) et des deux champignons signalés ci-dessus.

les galets sculptés des lacs jurassiens. Langeron a identifié sur des coupes de galets calcaires ou de travertins des *Plectonema*, des *Schizothrix* dans les couches profondes, et surtout des rivulariées (*Rivularia limnactis*, *Gomontia polyrhiza*), des diatomées, des *Calothrix*, rarement des *Phormidium*, et des nostocacées (*Dichothrix*) dans les couches plus superficielles.

Actuellement, on sait (1) que les algues perforantes appartiennent surtout aux deux groupes des cyanophycées et des chlorophycées.

Les cyanophycées sont surtout des rivulariacées (*Rivularia*, *Euactis calcivora*, *Dichothrix*, *Calothrix*), des oscillatoriacées (*Phormidium*, *Schizothrix*), des scytonemacées (*Plectonema*), des nostochacées (*Mastigocoleus*, *M. testarum* Lagerheim, var. *aquæ dulcis* Nadson), des pleurocapsacées (*Hyella fontana* Huber et Jadin).

Les chlorophycées sont à peu près exclusivement des chétophoracées appartenant à la sous-famille très spécialisée des gomontiées (Wille), avec les genres *Gomontia* Bornet et Flahaut et *Tellamia* Batters : *Gomontia codiolifera* (Chodat) Wille (= *G. polyrhiza* auct.) et *Tellamia perforans* (Chodat) Wille.

En conclusion de cet aperçu historique et de nos constatations sur l'absence de corrosion de la coquille chez les animaux isolés dès leur naissance, il est permis d'admettre que les lésions superficielles faites aux mollusques dans la nature ou en élevage en commun (sur les parties les plus anciennes de leur coquille dont l'épiderme est devenu fragile, comme le centre des planorbes ou le sommet de la coquille de divers gastéropodes) peuvent être envahies par des algues perforantes répandues dans la nature et appartenant, comme nous l'avons vu ci-dessus, à des groupes divers. Nous devons cependant avouer que nos recherches sur coupes ou par dilacération ne nous ont pas permis de mettre en évidence des algues ou des champignons dans les coquilles corrodées de *P. glabratus*.

REPRODUCTION

Accouplement. — Dans les élevages en commun de planorbes adultes, l'accouplement s'observe assez facilement quand les animaux sont nombreux et bien nourris, et, dans ces conditions, nous n'avons jamais vu que des pariades unilatérales à deux, un animal jouant le rôle de mâle et l'autre de femelle. Pour bien étudier ce phénomène, il faut, comme nous l'avons toujours pratiqué dans le cas des hirudinées

(1) Ces derniers documents botaniques nous ont été communiqués par le Dr M. Langeron.

dès 1901, isoler des animaux soit depuis leur naissance, soit depuis quelques jours ou quelques semaines et les réunir dans un même récipient en leur donnant une nourriture abondante. Dans le cas de *Planorbis glabratus* (Expérience 4/XXVIII), dès le premier quart d'heure, on peut observer de nombreux accouplements unilatéraux à deux et un certain nombre d'accouplements à trois, les animaux formant une chaîne comme dans le cas des limnées, un individu, celui du milieu, jouant le rôle de femelle vis-à-vis du premier planorbe et de mâle vis-à-vis du troisième. Ces accouplements persistent pendant longtemps, certains couples se détachent pendant que d'autres se réunissent. Vers le troisième jour, l'excitation sexuelle semble terminée et les jours suivants des accouplements de courte durée sont observés assez rarement.

Les animaux accouplés déposent souvent, sur la coquille de leurs congénères, des pontes plus ou moins nombreuses.

Autofécondation. — Presque tous les mollusques pulmonés aquatiques peuvent pondre des œufs fertiles sans accouplement préalable. Ce phénomène, observé pour la première fois par Oken (1817) dans le cas de *Limnæa auricularia*, a été revu par tous les auteurs qui ont élevé des mollusques basommatophores à l'état d'isolement dès leur sortie de l'œuf (voir tableau). Bien que tous ces mollusques soient hermaphrodites, ce phénomène pouvait être attribué, soit à une parthénogenèse due à une évolution protogynique, ce qui n'a jamais été démontré, soit à une autofécondation due à un hermaphrodisme suffisant, ce qui est actuellement bien établi.

En faisant des coupes dans la glande hermaphrodite ou en examinant des dilacérations de cette glande et des conduits génitaux, il est facile de trouver des spermatozoïdes et des œufs mûrs. Cependant, pour établir l'existence de l'autofécondation, il était nécessaire d'examiner les œufs venant d'être pondus par un mollusque isolé depuis sa naissance. Si ces œufs n'émettaient qu'un seul globule polaire, on pouvait admettre la parthénogenèse, mais s'ils en émettaient deux, on était en droit d'affirmer la fécondation de l'œuf par un spermatozoïde.

L'examen au microscope des œufs pondus a permis à divers auteurs (1) : Colton (1918), Crabb (1927), Brumpt (2) (1928) de

(1) Il est intéressant de rappeler que c'est en examinant des œufs d'une limnée que Carus a découvert les globules polaires en 1824.

(2) Nous avons toujours pu suivre facilement ce phénomène en examinant des pontes détachées de leur support, ou mieux, en observant des pontes déposées sur des lames de verre ou de la cellophane, à condition que l'échantillon employé de cette dernière substance ne soit pas toxique pour les mollusques.

constater l'émission successive de deux globules polaires (fig. 1) et de voir à l'intérieur du vitellus un fuseau clair précédant de quelques heures la première division de l'œuf en deux cellules.

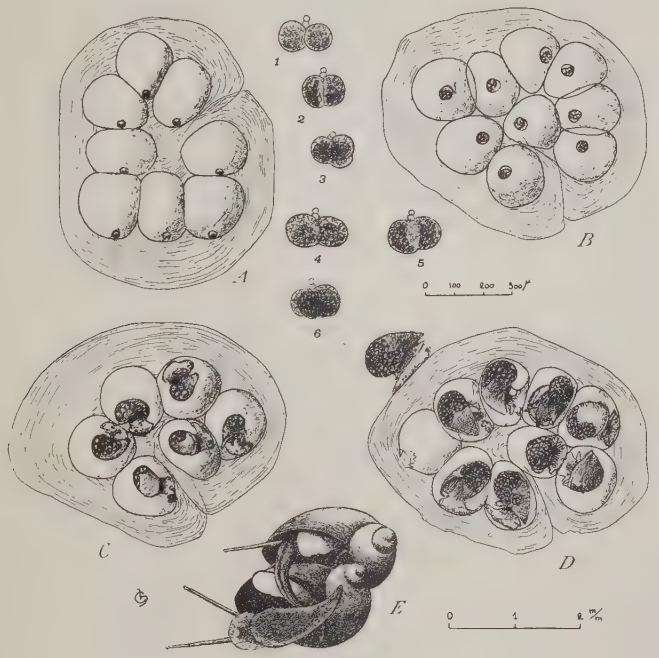


Fig. 1. — Étude de l'autofécondation du mollusque aquatique pulmoné, *Bullinus contortus*. A, B, C, D, pontes à divers stades d'évolution. 1, 2, 3, 4, 5, émission des deux globules polaires; en bas, deux individus isolés depuis leur naissance et s'accouplant dès leur réunion dans un même récipient. D'après E. Brumpt, 1928.

Il est très facile de suivre l'émission des globules polaires quand on possède des pontes venant d'être déposées et que l'on peut obtenir en isolant des animaux vierges dans de nombreux tubes Borrel en verre mince. En passant ces tubes en revue à des intervalles aussi courts que possible, on peut étudier des pontes jeunes et suivre l'expulsion du premier puis du second globule polaire.

Si les pontes sont déposées sur des lames de verre ou sur la cello-

phane, elles sont beaucoup plus faciles à examiner au microscope et leur développement peut être mieux suivi.

Mais ces recherches sur le vivant devaient être complétées par des études histologiques sur des pièces fixées. Ces travaux ont été effectués par Crabb (1927, 1928), par de Larembergue (1929) et par Ikeda (1937). Ces auteurs ont pu suivre la fusion des gamètes et confirmer

Dépôt de pontes fertiles par des mollusques aquatiques isolés dès leur naissance (1).

Limnæa acuminata	Seshaiya	1927
L. auricularia	Oken	1817
L. catascopium	Colton	1918
L. columella	Colton	1912
L. humilis modicella	Colton	1918
L. japonica	Taki	1930
L. luteola	Seshaiya	1927
L. ovata	Holzfuss	1914
L. palustris	Crabb	1928
L. peregra	Boycott et Diver	1923
L. reflexa	Colton	1918
L. stagnalis	Robin	1849
L. stagnalis appressa	Crabb	1927
Physa acuta	Holzfuss	1914
Ph. fontinalis	Holzfuss	1914
Ph. gyrina	Crabb	1927
Ph. halei	Baker	1933
Ph. heterostropha	Poteat	1892
Ph. sayi	Crabb	1927
Ancylus fluviatilis	Colton	1918
Planorbis boissyi	de Larembergue	1938
P. corneus	Holzfuss	1914
P. exacutis	Colton	1918
P. exustus	Brumpt	1936
P. glabratus (= guadeloupensis)	Brumpt	1941
P. marginatus	Holzfuss	1914
P. metidjensis	Brumpt	1928
P. parvus	Colton	1918
P. vortex	Chadwick	1903
Bullinus contortus	Brumpt	1928
Pyrgophysa forskali	de Larembergue	1938

(1) Afin de simplifier ce tableau, nous n'avons indiqué que les premiers auteurs ayant établi ce phénomène. Leurs recherches ont été confirmées depuis par un certain nombre d'autres investigateurs dont on trouvera les noms dans l'excellent travail de Larembergue (1939).

l'existence de l'autofécondation établie par l'étude des pontes fraîchement déposées comme nous venons de le signaler. Nous croyons utile de donner ci-dessous un tableau indiquant toutes les espèces de basommatophores chez lesquelles l'autofécondation a été observée, ainsi que le nom des auteurs qui l'ont établie pour la première fois.

Dans le cas de *Planorbis glabratus* dont 24 exemplaires (Expérience 885/XXVII du 15 janvier 1940) avaient été isolés dès leur éclosion et élevés à la température de 25° C., dans des tubes cylindriques renfermant 80 cm³ d'eau, la ponte a débuté dès que les animaux eurent atteint 10 à 11 mm., soit un peu moins de la moitié du diamètre des animaux complètement développés qui atteignent facilement 24 à 26 mm. Les premières pontes furent déposées le 46e jour. Les chiffres suivants indiquent, entre parenthèses, pour chaque mollusque, le nombre de jours d'isolement ayant précédé la première ponte :

I (48) ; II (60) ; III (52) ; IV (46) ; V (51) ; VI (50) ; VII (50) ; VIII (52) ; IX (52) ; X (57) ; XI (50) ; XII (46) ; XIII (49) ; XIV (52) ; XV (52) ; XVI (56) ; XVII (n'avait pas pondu le 65e jour) ; XVIII (51) ; XIX (47) ; XXI (47) ; XXII (53) ; XXIII (48) ; XXIV (63).

La fécondité des animaux isolés, établie d'après le nombre de pontes et la totalité des œufs déposés, varie beaucoup suivant les individus de même origine, de taille égale et vivant à la même date dans des conditions identiques. C'est ainsi que sur 22 exemplaires provenant du même planorbe (Expérience 885, XXVII), isolés depuis 65 jours, nous avons relevé les chiffres suivants :

I (11 pontes et 311 œufs) ; II (2 et 18) ; III (6 et 60) ; IV (19 et 520) ; V (7 et 227) ; VI (6 et 82) ; VII (9 et 195) ; VIII (8 et 221) ; IX (6 et 62) ; X (5 et 113) ; XI (9 et 264) ; XII (14 et 375) ; XIII (9 et 62) ; XIV (5 et 125) ; XV (14 et 281) ; XVI (4 et 48) ; XVII (0) ; XX (15 et 281) ; XXI (15 et 407) ; XXII (1 et 9) ; XXIII (11 et 324) ; XXIV (3 et 44).

Soit pour 22 animaux, un total de 179 pontes et de 4.171 œufs, ce qui donne comme chiffre moyen 23,3 œufs par ponte de planorbes âgés de 65 jours à la fin de cette expérience. D'autres observations que nous croyons inutile de relater, ont donné des résultats identiques.

Le *rythme de la ponte* ne présente aucune régularité. Certains exemplaires pondent presque chaque jour, plusieurs jours de suite, puis s'abstiennent pendant deux ou trois jours et recommencent. D'autres déposent deux et même trois pontes par jour, puis s'arrêtent pendant plusieurs jours sans qu'il soit possible d'en établir la cause,

car tous les animaux sont de même origine et vivent dans des conditions identiques.

En ce qui concerne la *fertilité des pontes* déposées par des animaux isolés, il est intéressant de constater que certaines pontes, semblant tout à fait normales et déposées dans le même tube Borrel que les autres, n'évoluent pas et ressemblent, plusieurs semaines plus tard, à des pontes fraîchement émises. Ces pontes stériles ne sont pas nécessairement les premières déposées par les mollusques, nous les avons observées parfois après 12 pontes ayant évolué normalement. A titre documentaire, nous indiquons ci-dessous, entre parenthèses, après le numéro d'ordre du planorbe isolé dès sa naissance, le chiffre de pontes stériles et le nombre total de pontes déposées :

I (2 stériles sur 11); II (1 sur 2); III (1 sur 6); IV (2 sur 19); V (2 sur 7); VI (1 sur 6); VII (1 sur 9); VIII (1 sur 8); IX (0 sur 6); X (0 sur 5); XI (1 sur 9); XII (1 sur 14); XIII (0 sur 9); XIV (4 sur 5); XV (3 sur 14); XVI (0 sur 4); XVIII (1 sur 2); XIX (1 sur 9); XX (0 sur 5); XXI (6 sur 13); XXII (0 sur 1); XXIII (2 sur 11); XXIV (2 sur 3).

En dehors de ces pontes stériles, il est à noter que quelques œufs de certaines pontes fertiles n'évoluent pas, leur pourcentage sur l'ensemble des pontes est à peine de 3.

Les 20 planorbes encore vivants le 66e jour, deux d'entre eux étant morts le 65e, ont été réunis dans un même bocal et s'y sont tous accouplés. Ils ont continué à pondre et ont déposé 74 pontes en 4 jours, dont 26 sur le bocal et 48 sur leurs congénères. Ils ont alors été divisés en deux lots, 12 ont été conservés dans une cuve de verre renfermant 3 litres d'eau (Expérience 56'/XXVIII) et 8 ont été isolés en tubes Borrel (Expérience 56/XXVIII).

Chez ces animaux accouplés, puis isolés de nouveau, la ponte ne semble pas avoir été stimulée d'une façon particulière, les animaux étant plus âgés sont naturellement plus prolifiques et leurs pontes deviennent plus importantes. C'est ainsi que du 70e au 80e jour de leur naissance, les 12 planorbes vivant en commun (56') ont déposé 107 pontes, soit une moyenne de 9,09 par jour et de 0,757 par animal et par jour.

Les 8 planorbes isolés (Expérience 56) ont déposé respectivement du 70e au 80e jour : I (10 pontes); II (14); III (6); IV (10); V (13); VI (11); VII (11); VIII (10), soit un total de 79 pontes en 11 jours pour 8 mollusques et une moyenne de 7,18 pontes par jour et de 0,89 par animal. L'isolement semble donc avoir eu une influence légèrement favorable sur la ponte d'animaux de même âge et de même taille.

En ce qui concerne les pontes, il n'y a rien de surprenant à constater que les animaux étant plus grands et ayant quelques jours de plus que lors de la fin de l'expérience d'isolement (n° 885/XXVII), le nombre d'œufs qu'elles renferment soit plus élevé, et nous ne pensons pas que cela soit dû à la fécondation croisée. Sur les 79 pontes déposées par les 8 mollusques isolés, la plus petite renferme 32 œufs et la plus grande 80, la moyenne étant de 55 par ponte environ, chiffre par conséquent bien supérieur au chiffre moyen de 23,3 œufs de ces mêmes animaux ayant pondu du 46e au 65e jour de leur isolement.

Malgré son intérêt, cette expérience est à refaire, en isolant dès la naissance un plus grand nombre d'animaux et en conservant comme témoins des animaux à stricte autofécondation, ce qui permettrait d'établir si l'importance des pontes que nous venons de signaler ci-dessus (Expériences 56 et 56′) est due à l'action stimulante de l'accouplement ou simplement à l'âge des animaux.

Un fait intéressant à signaler, c'est que les nombreux témoins vivant en commun et très bien nourris n'ont encore déposé que 3 pontes, une le 30 mars, les deux autres le 3 avril, soit 77 et 80 jours après leur naissance, ce qui prouve l'influence inhibitrice très nette des élevages en commun sur la maturité sexuelle, toutes les autres conditions étant égales à celles dans lesquelles se développent les animaux isolés.

Ponte. Conditions déterminantes. — La ponte de *Planorbis glabratus* ressemble à toutes les pontes de planorbes (fig. 2), elle présente cependant plus nettement que chez les autres espèces un aspect spiralé. Elle est plate, ovalaire avec un hile indiquant le début et la fin du ruban ovalaire. Les œufs sont disposés sur un seul plan, comprimés les uns contre les autres, par rangs de 1, 2, 3 ou 4 suivant l'âge des animaux qui les ont déposés, recouverts par une capsule élastique résistante (1), et en nombre variable suivant les dimensions des mollusques. Un planorbe de taille moyenne (24 mm.) dépose souvent des pontes de 80 à 100 œufs ; les jeunes exemplaires de 10 à 11 mm. de diamètre émettent leurs premières pontes constituées de 5 à 20 œufs.

La ponte s'effectue rapidement, et comme elle est normalement noc-

(1) Ces pontes sont assez résistantes pour pouvoir être détachées facilement, à l'aide d'un scalpel bien tranchant, des parois des tubes Borrel, ce qui permet de les examiner au microscope et de suivre l'expulsion des deux globules polaires indiquant l'autofécondation chez les animaux isolés depuis leur naissance, ainsi que leur parasitisme par les cercaires (fig. 3).

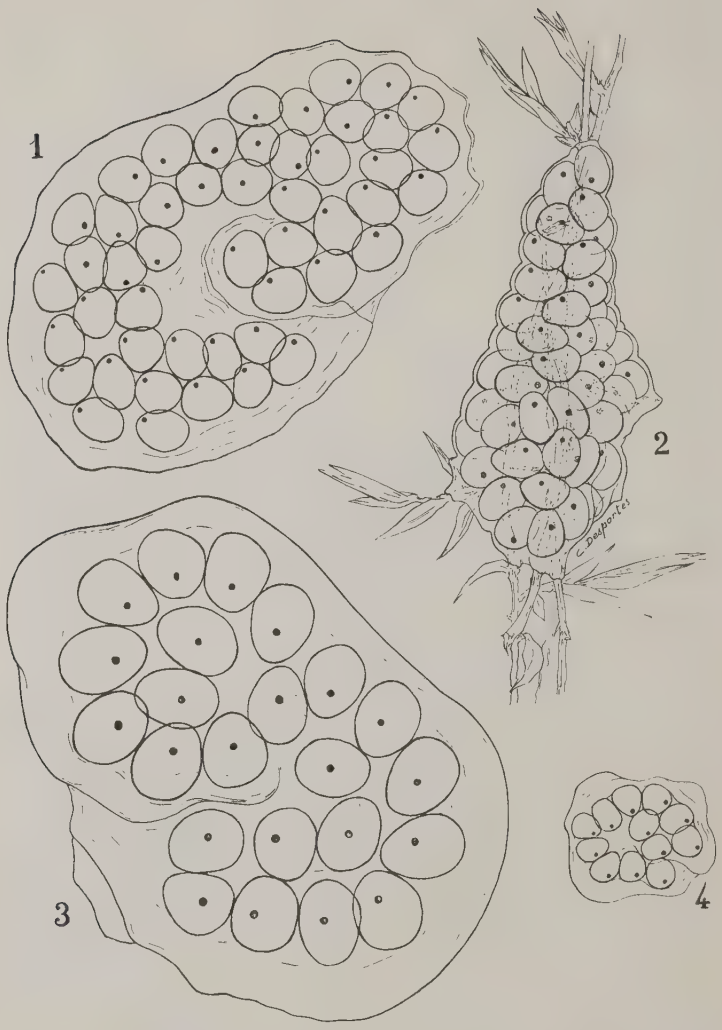


Fig. 2. — Pontes de divers planorbes représentées à la même échelle et grossies environ 7 fois. 1 et 2, pontes de *P. glabratus*; 2, ponte déposée sur un brin de mousse aquatique; 3, *P. corneus*; 4, *P. metidjensis*.

turne, nous n'avons pu l'observer qu'après la constatation fortuite que des planorbes, qui avaient passé la nuit sans pondre dans une eau légèrement putréfiée par la présence de salade en fermentation et dont la température était de 28 à 30° C., pondaient presque tous en moins d'une heure quand ils étaient mis dans de l'eau propre et à une température de 20 à 21° C. En répétant cette expérience plusieurs jours de suite et en surveillant nos animaux, nous avons pu observer que la ponte s'effectue dans les mêmes conditions que chez *Bullinus contortus*, ainsi que nous l'avions vu chez cet animal, mais non publié et comme de Larembergue l'a très bien décrit dans sa thèse.

La ponte de *P. glabratus* s'effectue en trois à cinq minutes, suivant les exemplaires. L'animal qui veut pondre s'arrête et l'on voit sortir du bord gauche de la cavité palléale un cylindre d'œufs qui passe sous son pied, formant gouttière. A ce moment, le mollusque tourne dans le sens des aiguilles d'une montre et dépose sur la paroi du bocal le ruban ovulaire blanchâtre, ce qui explique la forme spiralée de la ponte. Quand cette dernière est adhérente au support, le planorbe repasse sa ponte avec son pied, puis s'éloigne. En moins d'une heure, la capsule ovifère prend sa teinte cornée caractéristique. Si le mollusque est dérangé au moment où le ruban ovulaire sort de l'orifice femelle, la ponte tombe au fond du bocal et présente une forme cylindrique.

Dans la nature, les pontes doivent être généralement déposées sur des plantes ou des corps solides divers, car en 1939, ni à la Guadeloupe en juillet (1), ni au Venezuela en novembre, nous n'avons eu l'occasion d'observer des pontes sur les coquilles des planorbes vivants, ce qui se voit si fréquemment dans les élevages de laboratoire, surtout quand on réunit des planorbes isolés depuis leur naissance. C'est ainsi que dans l'expérience 4/XXVIII, 20 planorbes ont déposé en 4 jours, durant lesquels ils étaient presque toujours accouplés, 23 pontes sur les parois du bocal, 2 ou 3 sur de la salade et 48 sur les coquilles de leurs congénères.

Les pontes sont déposées sur des objets lisses comme le verre, la cellophane, et dans certains cas, sur les nervures des feuilles de salade, rarement sur certaines mousses (*Amblystegium*) (2, fig. 2); dans 90 o/o des cas, elles sont déposées sur les parois des bocaux, en particulier au niveau de l'eau et dans le tiers supérieur de la hauteur

(1) Nous tenons cependant à signaler que sur 110 *Planorbis glabratus* récoltés le 23 février 1923, 3 portaient une ponte sur leur coquille, et que sur 150 autres récoltes le 20 mars 1923, 3 autres en présentaient également. Tous ces mollusques (796/VI) avaient été récoltés à notre intention par le Dr H. Cabre dans un bassin du square Pichon, à Basse-Terre (Guadeloupe).

d'eau. Les pontes se voient très rarement sur le fond du bocal, contrairement à ce que l'on observe dans les élevages de *Bullinus contortus*. Dans les cuves renfermant 3 litres d'eau, 70 o/o des pontes se trouvent dans les trois centimètres supérieurs de la masse d'eau.

Le *nombre de pontes* déposées à une température de 25° C., dans de l'eau de Seine, sont aussi nombreuses chez les animaux vierges, isolés depuis leur naissance, que chez les animaux de même âge et de même taille qui se sont accouplés librement pendant plus ou moins longtemps.

Conditions déterminant la ponte. — Il est intéressant de passer en revue l'action des divers facteurs physiques, chimiques et biologiques sur la ponte des planorbes.

1. **Facteurs physiques. Température.** — Nous devons signaler en premier lieu l'importance de ce facteur. L'optimum thermique se place entre 20 et 25° C. La ponte cesse à 30° et au-dessous de 15°. Entre 20 et 15°, les mollusques pondent à un rythme ralenti. Nous avons signalé plus haut en décrivant l'acte de ponte, comment le passage de la température de 28-30° à une température de 20-21° avait déterminé le dépôt de nombreux œufs pendant le jour (1).

L'influence de l'abaissement de la température sur la ponte des mollusques pulmonés a été signalée par Gordon, Davey et Peaston (1934) dans le cas de *Planorbis pfeifferi* et de *Physopsis globosa*. Ces auteurs ont noté que le transfert de ces mollusques de 33° C. dans une eau maintenue artificiellement à 20°, à Sierra Leone, déterminait la ponte. Nous avons observé aussi ce phénomène avec des *Bullinus contortus* (N° 1041, XXV). Ces animaux vivant en commun et maintenus dans une étuve à 25-28°, avaient déposé une vingtaine de pontes en trois semaines. Placés hors de l'étuve, à 15-18°, dans le même bocal dont l'eau n'était pas changée car elle était purifiée par la présence de mousse aquatique, les pontes devinrent immédiatement nombreuses

(1) Voici quelques détails sur cette expérience (340/XXVIII). Le 29 avril 1940, 22 *P. glabratus* de 18 à 20 mm. de diamètre ayant passé la nuit dans 3 litres d'eau légèrement souillée par la salade en fermentation, à la température de 30°, n'ayant déposé aucune ponte jusqu'à 11 heures du matin, sont remis à cette heure, dans 750 cm³ d'eau propre à 20°-21°. Entre 11 heures et 15 heures, ils déposent 22 pontes. Le 30 avril, le passage de 30° à 20° détermine le dépôt de 16 pontes entre 12 et 14 heures. Le 2 mai, le passage de l'étuve à 30°, à la température de 18° dans de l'eau fraîche détermine la ponte de 15 animaux entre 12 heures et 15 heures. C'est en surveillant ces planorbes que nous avons pu observer l'acte de ponte. Nous avons répété cette expérience avec succès avec d'autres lots de *Planorbis glabratus*.

et plus de 100 furent déposées en une semaine. Dans cette dernière expérience, seul le facteur température a déterminé la ponte.

Action de la lumière et rythme nocturne. — Le dépôt nocturne de la ponte chez les mollusques basommatophores, dont font partie tous les pulmonés aquatiques, a été déjà signalé par W. Cole (1925), W. H. Krull (1931), P. Pelseneer (1935), E. Brumpt (1936) et H. Precht (1936). Cole a même établi que chez certains planorbes américains le rythme nocturne n'est pas changé après inversion de l'éclairement.

En ce qui concerne *Planorbis glabratus*, nous avons institué un certain nombre d'expériences sur des animaux vivant en commun dans une grande cuve contenant 3 litres d'eau (Expérience 56′ XXVIII) et sur des animaux de même âge et de même origine, isolés en tubes Borrel (Expériences 56/XXVIII et 65/XXVIII).

1° *Expérience 56′/XXVIII.* — Les pontes de ces douze animaux, au nombre de 161 pendant les 22 jours d'observation, ont toujours été déposées de 19 h. 30 à 9 heures du matin, dans une armoire-étuve chauffée par des lampes électriques éclairant faiblement les élevages pendant la nuit.

2° *Expérience 56/XXVIII.* — Les huit exemplaires isolés en tubes Borrel et vivant dans les mêmes conditions que ceux de 56′ ont déposé en 22 jours un total de 132 pontes, soit 84 de 19 h. 30 à 9 heures et 48 de 9 heures à 19 h. 30. Nous donnons ci-dessous, pour chaque exemplaire, entre parenthèses, le nombre de pontes nocturnes et celui des pontes diurnes :

I (5 noct. ; 9 diur.) ; II (9 ; 11) ; III (9 ; 10) ; IV (12 ; 3) ; V (15 ; 2) ; VI (13 ; 4) ; VII (13 ; 3) ; VIII (8 ; 6).

Il résulte de ces chiffres qu'il existe des variations individuelles très notables.

3° *Expérience 65/XXVIII.* — Les huit exemplaires isolés en tubes Borrel et soumis aux mêmes facteurs extérieurs que ceux des expériences précédentes, ont déposé en 22 jours un total de 101 pontes, dont 63 la nuit et 38 le jour, avec des variations individuelles très nettes, comme dans l'expérience 56, ainsi qu'il résulte des pontes relevées pour chaque exemplaire :

I (14 ; 6) ; II (11 ; 5) ; III (13 ; 3) ; IV (7 ; 8) ; V (6 ; 8) ; VI (2 ; 5) ; VII (4 ; 0) ; VIII (6 ; 3).

Dans l'ensemble de nos expériences, portant sur de nombreux lots d'animaux en âge de pondre, nous avons remarqué que, dans des conditions égales de température, d'eau et de nourriture, les animaux pondent presque toujours la nuit lorsqu'ils vivent en commun. C'est seulement quand certaines conditions sont défavorables pendant la nuit que les animaux déposent leurs pontes dans la journée, en particulier quand l'eau plus ou moins polluée de la nuit est changée le jour

contre de l'eau pure, même quand cette dernière est à la même température que l'eau nocturne.

Volume d'eau. — La quantité d'eau mise à la disposition des planorbes ne semble avoir aucune action sur la ponte, sauf en ce qui concerne le rythme diurne constaté dans les expériences 56 et 65/XXVIII. C'est ainsi que des planorbes, mesurant de 22 à 24 mm. de diamètre et conservés dans 80 cm³ d'eau en tubes Borrel (56 et 65 XXVIII), déposent autant de pontes que leurs témoins de même origine ayant plus de 250 cm³ d'eau à leur disposition (Expérience 56′/XXVIII).

2. Facteurs chimiques. — Comme facteur chimique important, signalons l'influence des gaz contenus dans l'eau corrompue qui réduisent la ponte des mollusques supportant d'ailleurs sans inconvénient une grande quantité de substances putrescibles comme les matières fécales de l'homme ou des animaux (1) dans leur eau. Il suffit de remplacer l'eau plus ou moins souillée par de l'eau pure pour déterminer l'acte de ponte, même en plein jour comme nous l'avons déjà signalé.

Eau de mer — Des mollusques adultes, progressivement habitués à vivre dans l'eau saumâtre à 25 p. 100 d'eau de mer, et qui pondaient abondamment dans l'eau douce, n'ont jamais déposé de ponte dans ce milieu artificiel.

3. Facteurs biologiques. — En ce qui concerne ces facteurs, constatons l'influence assez faiblement favorable de l'isolement des animaux adultes dans des tubes Borrel (Expériences 56 et 65/XXVIII et expérience témoin 56′).

C'est ainsi que les 16 planorbes (Expériences 56 et 65) isolés en tubes Borrel, renfermant 80 cm³ d'eau ont déposé 233 pontes en 22 jours, soit 10,59 pontes par jour et 0,66 par animal, tandis que les 12 planorbes témoins (56′) ont déposé pendant la même période 161 pontes, soit 7,3 pontes par jour et 0,6 par mollusque.

Influence du parasitisme sur la ponte (Expériences 31′, 109 et 109′/XXVIII). — L'action du parasite sur son hôte est efficace en ce qui concerne la réduction du nombre des pontes. Pendant les premiers jours de leur infection par *Schistosoma mansoni*, les planorbes

(1) 5 ou 6 *Planorbis glabratus* en âge de pondre et maintenus plusieurs jours (Exp. 170/XXVIII) dans une eau très impure (*p*H 7,3) renfermant des déjections de hérisson infectées par des œufs de *S. mansoni* à la température de 25°-28° C., ont déposé 7 pontes. Mis dans l'eau pure le 13 avril, à 11 heures, ils déposèrent 4 nouvelles pontes pendant le jour, avant 15 heures.

déposent des pontes aussi nombreuses que les témoins vivant dans les mêmes conditions. Vers le 10e jour, même quand les lésions tentaculaires existent, la ponte continue. Cependant, vers le 18e jour, au moment de l'émigration des sporocystes-fils, la ponte cesse à peu près complètement et ne s'observe plus que très rarement (1), pendant la durée d'émission des cercaires.

Fig. 3. — Ponte de *P. glabratus* dont les œufs renferment de nombreuses cercaires de *Schistosoma mansoni*. Exemplaire 27 de l'expérience 109/XXVIII, ayant déposé cette ponte le 8 mai 1940, soit 51 jours après l'infection.

Cependant, malgré l'abondance des sporocystes et des cercaires dans les glandes génitales des planorbes, nous n'avons jamais observé de castration parasitaire complète. Les ovules deviennent de plus en plus rares, mais la spermatogenèse continue et les spermatozoïdes sont nombreux sur les coupes ou à la dissection des animaux émettant des cercaires.

L'étude des pontes, exceptionnelles d'ailleurs, déposées par des planorbes émettant des cercaires nous a permis de constater la présence de cercaires extrêmement agiles dans les œufs où elles vivent de 24 à 36 heures au maximum et où leurs cadavres sont entièrement

(1) Sur plus de 100 planorbes infectés en âge de pondre, 6 seulement ont déposé des pontes au nombre de 14 seulement en 10 jours (Exp. 1 et 109/XXVIII).

dévorés au même titre que le vitellus par les jeunes embryons. D'après nos études portant sur 14 pontes déposées par 6 planorbes, la présence des cercaires vivantes ou mortes dans l'œuf ne semble pas gêner le développement des jeunes mollusques.

Nous donnons ci-dessous quelques détails concernant la fréquence et le nombre de cercaires dans les œufs de 6 exemplaires des expériences 1 et 109/XXVIII :

Expérience 1/XXVIII.

Exemplaire IV : 5/5 1940, 14 œufs dont 12 renfermant 1 à 7 cercaires ; 8/5, 21, 21 à 1-8 c. ; 9/5, 13 à 1-25 c. ; 12/5, 17, 12 à 1-5 c.

Exemplaire V : 4/5, 24, 24 à 1-4 c. ; 8/5, 17, 17 à 1-10 c. ; 10/5, 7, 7 à 1-15 c.

Exemplaire XX : 5/5, 15, 13 à 1-10 c. ; 9/5, 22, 22 à 1-20 c.

Expérience 109/XXVIII.

Exemplaire XVIII : 3/5, 26, 24 à 1-10 c. ; 5/5, 14, 14 à 5-15 c. ; 8/5, 23, 23 à 5-15-20 c. ; 9/5, mort.

Exemplaire XXVI : 6/5, 37, 37 à 1-20 c.

Exemplaire XXVII : 8/5, 24, 24 à 2-30 (fig. 3).

La présence de cercaires dans les œufs, fait qui n'avait pas encore été signalé jusqu'à nos recherches, doit être un phénomène général chez les mollusques parasités quand l'infection de la glande génitale est assez faible pour ne pas arrêter totalement la ponte. L'existence des cercaires dans les œufs montre que ces larves prennent, entre autres voies de sortie, les conduits génitaux femelles. Comme les auteurs sont loin d'être d'accord sur les voies d'évacuation des cercaires, ce fait présente déjà un grand intérêt. Il est vrai que la présence habituelle de cercaires libres dans l'eau où les pontes sont déposées pourrait faire penser à une pénétration de ces animaux dans les pontes ; or cette hypothèse est à rejeter car, d'une part, nous avons observé dans un cas une ponte très infectée déposée le 9 mai par l'exemplaire IV de l'expérience 1/XXVIII dans un tube ne renfermant aucune cercaire et, d'autre part, nous savons que les cercaires abandonnent leur appendice caudal quand elles pénètrent dans un tissu animal quelconque, or celles renfermées dans les œufs sont toujours entières. Enfin, sur des milliers de cercaires mises en contact avec des pontes fraîches, aucune n'a été attirée par elles et n'a cherché à y pénétrer.

Bien que les œufs des pontes où les cercaires existent semblent se

développer normalement dans le cas de *Planorbis glabratus*, il n'en est pas moins vrai que pendant 24 ou 36 heures, l'œuf en voie de segmentation est traumatisé par les mouvements extrêmement vifs des cercaires et on peut penser que dans certains cas et chez certains animaux ce parasitisme peut engendrer des monstruosités.

Fécondité. — La fécondité de *Planorbis glabratus* est considérable car, isolé dès sa naissance, il peut pondre à l'âge de six semaines (Expérience 885/XXVII), dès qu'il a atteint la moitié de son diamètre moyen, soit 10 à 11 mm., et il semble pondre jusqu'à sa mort (1). En admettant que celle-ci se produise à 18 mois, à une température moyenne de 25° C., longévité que nos élevages nous permettent d'admettre, un individu normal pourrait déposer pendant une moyenne de 15 mois, environ 20 pontes de 50 à 80 œufs par mois, soit à peu près 20.000 œufs pendant sa vie. Inutile d'ajouter que si, au laboratoire, ces chiffres peuvent être obtenus à l'abri des ennemis naturels et des conditions climatiques défavorables, il n'en est heureusement pas de même dans la nature où ces derniers facteurs contrôlent la pullulation de ces redoutables mollusques.

Fertilité. — La fertilité des pontes est très grande. Quand l'eau des bocaux est renouvelée fréquemment, ce qui empêche les infusoires, les rotifères, les oligochètes et divers crustacés de pulluler, le pourcentage d'éclosion dépasse 85 en moyenne et très souvent, il atteint 100 pour certains exemplaires.

Résistance à la dessiccation et à l'eau saumâtre. — La résistance des pontes sorties de l'eau dépend du stade évolutif des œufs au moment où débute l'expérience. Dans un tube Borrel couvert, renfermant plusieurs pontes en atmosphère humide à 25° C. (Expérience 197/XXVIII), les pontes âgées de plusieurs jours continuent en partie leur évolution, et les jeunes sortent dès que le tube est rempli d'eau ; les pontes jeunes n'évoluent pas. Ce cas peut se présenter dans la nature, quand l'ombrage d'un gîte temporairement à sec est suffisant.

Si les pontes déposées sur le tube Borrel sont hors de l'eau, même en milieu assez humide, elles meurent en moins de deux ou trois jours (Expérience 196/XXVIII).

Les pontes effectuées en eau douce et mises progressivement dans de l'eau saumâtre à 25 pour 100 d'eau de mer artificielle, n'évoluent pas.

(1) Nous avons en effet obtenu de nombreuses pontes fertiles de planorbes de Caracas d'un diamètre de 26 mm. et dont la coquille percée, couverte de grandes érosions, indiquait un âge avancé.

Développement et croissance. — A 25° C. environ, l'éclosion se produit parfois vers le 10e jour mais généralement un peu plus tard. Les animaux qui viennent d'éclore se nourrissent de la flore et de la faune microscopique, des vorticelles en particulier, que leur radula broute sur les parois des bocaux, et, très rapidement, ils se rassemblent sur les feuilles de salade mises à leur disposition.

Depuis 1927, date à laquelle nous avons entrepris l'élevage de mollusques, hôtes intermédiaires de divers schistosomes, dans le but d'étudier expérimentalement l'évolution de ces trématodes, nous avons constaté que les mollusques isolés dès leur naissance, en tube Borrel, dans 80 cm³ d'eau, afin d'observer l'autofécondation, se développaient beaucoup plus rapidement que ceux élevés en commun. Or, tous étaient abondamment nourris de salade et vivaient dans la même eau de Seine renouvelée dans les mêmes conditions. Nous avons remarqué ces faits antérieurement dans le cas de *Bullinus contortus*, *Planorbis boissyi*, *Planorbis metidjensis*, *Planorbis exustus*, et, actuellement, chez *Planorbis glabratus*.

On peut expliquer ces phénomènes en admettant que les animaux isolés mènent une vie végétative calme et ne sont pas gênés ou distraits par leurs grégaires congénères quand ils veulent s'alimenter. Mais l'exactitude de cette hypothèse est difficile à établir. Une autre hypothèse plus plausible, que les expériences 58, 58′, 95 et 96 XXVIII, nous permettront de vérifier, c'est que les animaux se développent d'autant plus vite qu'ils disposent d'une quantité d'eau plus considérable. C'est ainsi que (Expérience 885/XXVIII) des animaux du même élevage, isolés au nombre de 24 dès leur naissance dans 80 cm³ d'eau, ont commencé à pondre dès le 46e jour, alors que leurs congénères ayant vécu en commun au nombre de 274 dans une cuve de verre contenant 3 litres d'eau et ayant à leur disposition un volume d'eau de 11 cm³ seulement, moins favorable à leur respiration cutanée que dans le cas précédent n'ont déposé des pontes que beaucoup plus tard. Or, d'après Willen (1896) la respiration cutanée a une grande importance.

Nos observations, en ce qui concerne l'influence du volume d'eau, confirment celles de Semper (1874). Cet auteur avait établi que des *Limnæa stagnalis*, provenant de la même ponte et toutes élevées dans des conditions comparables, étaient d'autant plus grandes qu'elles avaient plus d'eau à leur disposition (1). Whitfield (1882) a observé une réduction considérable de la taille des *Limnæa megasoma*, élevées

(1) Nous avons constaté de grandes variations individuelles chez des *Limnaea stagnalis* isolées provenant d'une même ponte et élevées dans les mêmes conditions.

pendant plusieurs générations dans de petits récipients. Cependant, Legendre (1908) n'admet pas l'influence du volume d'eau, mais attribue le nanisme à l'influence nocive des produits éliminés par les mollusques, ce qui n'est pas le cas dans nos expériences où l'eau renfermant des plantes vertes est, d'autre part, changée chaque jour.

Popovici-Baznosanu (1921) admet que le volume d'eau n'a qu'une influence indirecte favorisant l'alimentation des mollusques grâce à la microflore plus abondante dans les grandes masses d'eau. Cette opinion ne peut être soutenue dans le cas de nos élevages où les animaux se nourrissent de feuilles de salade distribuées chaque jour en quantité plus que suffisante puisqu'il en reste toujours le lendemain.

Dans nos expériences, contrairement à l'opinion de Varigny (1895), nous estimons que l'étendue de la surface de l'eau, à condition que tous les animaux puissent venir y respirer, n'a aucune importance, car les animaux élevés en tube Borrel ont parfois une surface plus restreinte que celle dont disposent les animaux élevés en commun, qui restent cependant toujours plus petits.

Enfin, nous n'avons pas observé d'interaction néfaste résultant de la présence dans un même tube Borrel contenant 80 cm³ d'eau d'un *Planorbis glabratus*, d'un *Bullinus contortus* et d'une *Limnæa stagnalis* isolés depuis leur naissance (Expérience 53/XXVIII).

Nombre de générations annuelles au laboratoire. — *Planorbis glabratus* se reproduit à toutes les époques de l'année, à la température de 25°. Comme des animaux isolés pondent dès la sixième semaine après la naissance et que leurs œufs éclosent environ 15 jours plus tard, le cycle d'œuf à œuf à 25° C. demande 2 mois. Il peut donc y avoir à cette température six générations par an. C'est ce qui se produit probablement dans les régions tropicales où on peut récolter des animaux à tous les stades de développement, aux divers mois de l'année.

ROLE PATHOGÈNE. — Au Venezuela, la bilharziose intestinale est très localisée et n'atteint que quelque 20.000 à 25.000 sujets ; par contre, dans diverses régions du Brésil, en Guyane ainsi que dans certaines îles des Antilles, il est probable que le nombre des individus atteints s'élève à un total de plusieurs millions tout en demeurant inférieur au nombre de malades et de porteurs de parasites qui dépasse probablement trois ou quatre millions en Egypte et un chiffre au moins égal dans le reste de l'Afrique.

L'infection naturelle des *Planorbis glabratus* est parfois intense et peut atteindre le pourcentage expérimental qui est fréquemment de

Fig. 4. — Infections tentaculaires, palléales et pédieuses expérimentales de divers *P. glabratus*. 1, Planorbe n° 2 (exp. 31'/XXVIII) dessiné le 14e jour après l'infection ; 2, exemplaire 9 (exp. 31) le 13e jour ; 3, exemplaire 10 (exp. 170'/XXVIII) de 16 à 11 jours après l'infection, remarquer les nombreux sporocystes du bord du manteau ; 4, exemplaire 6 (exp. 31'/XXVIII), dessiné le 13e jour et présentant des sporocystes sur les tentacules et sur la sole pédieuse. *Sp.* sporocystes.

100 p. 100 (Expérience 170/XXVIII). Le plus souvent, comme les chances de contamination de ces mollusques varient beaucoup suivant les localités, on trouve des gîtes où aucun animal n'est infecté et d'autres où ils le sont dans un pourcentage plus ou moins élevé.

L'évolution de *Schistosoma mansoni* chez les planorbes est assez bien connue depuis les travaux de Leiper, de Lutz, de Lampe et de Faust et Hoffman. Cependant, nos recherches sur la souche vénézué-

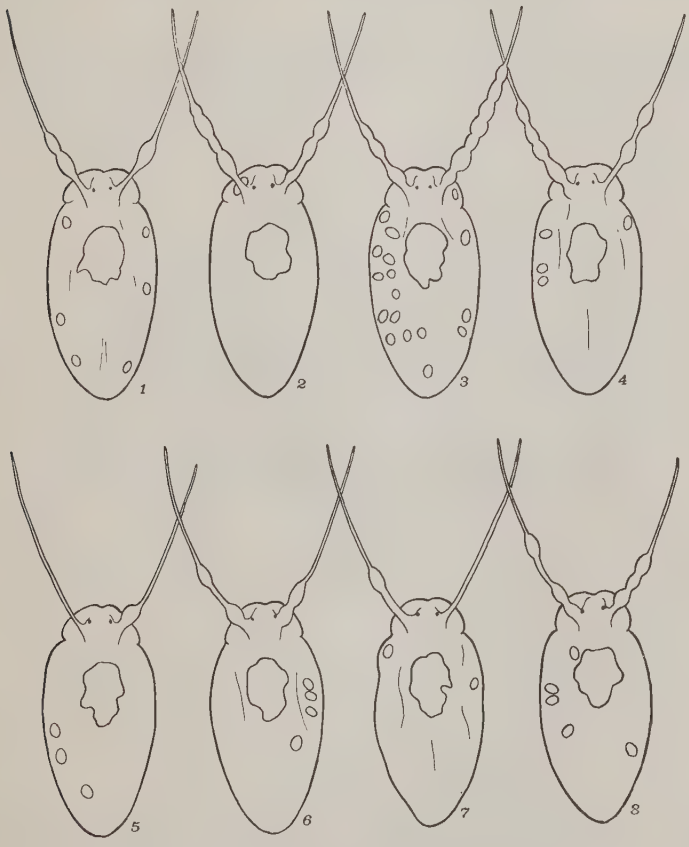


Fig. 5. — Infections expérimentales intenses de 8 exemplaires de *P. glabratus* par *Schistosoma mansoni* (exp. 31'/XXVIII) représentés le 18e *jour*.

lienne que nous conservons à notre laboratoire nous ont permis de compléter et de discuter les faits publiés par ces auteurs ; elles ont fait l'objet d'une communication préliminaire à la Société de Biologie à Paris (1940) et seront publiées d'ici peu dans ces *Annales*. Signalons dès maintenant que l'évolution complète jusqu'au stade cercaire peut s'effectuer localement dans les tentacules (fig. 4, 5, 6, 7) et le pied des mollusques, ce qui montre, contrairement à l'opinion classique, que

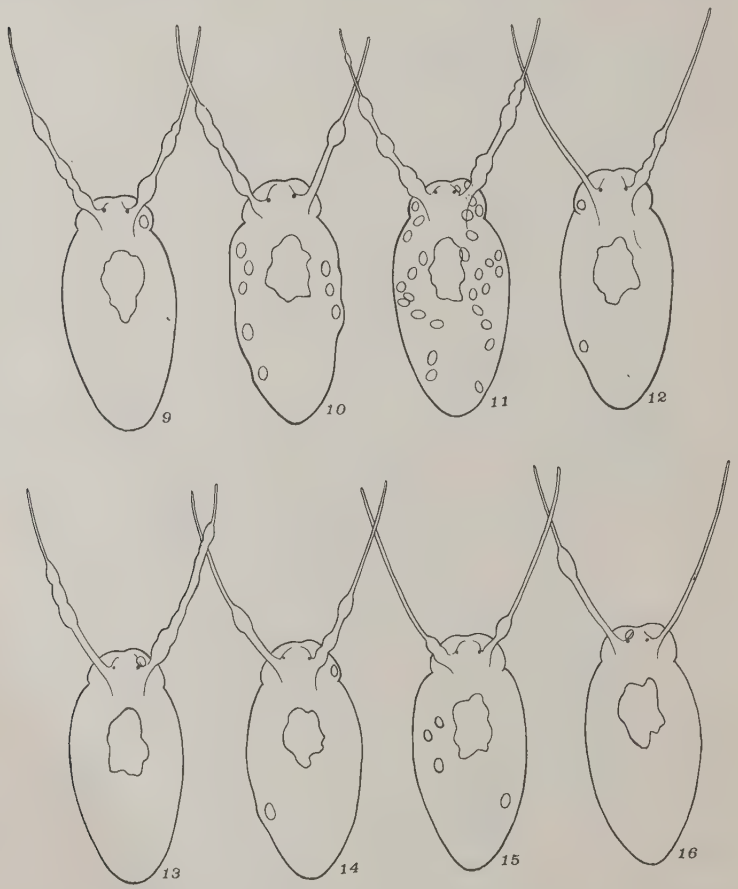


Fig. 6. — Infections expérimentales de 8 autres exemplaires de l'expérience 31'/XX, représentés le 19e jour.

l'émigration des sporocystes-fils dans l'hépato-pancréas du mollusque n'est pas un phénomène nécessaire bien qu'elle s'effectue normalement.

C'est par erreur que nous avons dit dans cette publication préliminaire qu'avant nos recherches personne n'avait confirmé les observations de Lutz car dans leur très important travail sur la transmission des bilharzioses humaines à Sierra Leone, Gordon, Davey et Peaston ont signalé en 1934 des lésions tentaculaires jeunes chez *Planorbis pfeifferi* infecté expérimentalement par les miracidies de *Schistosoma mansoni*.

Destruction des planorbes. — On peut employer, dans le cas qui nous intéresse comme dans la lutte contre une quantité d'êtres nuisibles, divers procédés physiques, chimiques et biologiques plus ou moins pratiques.

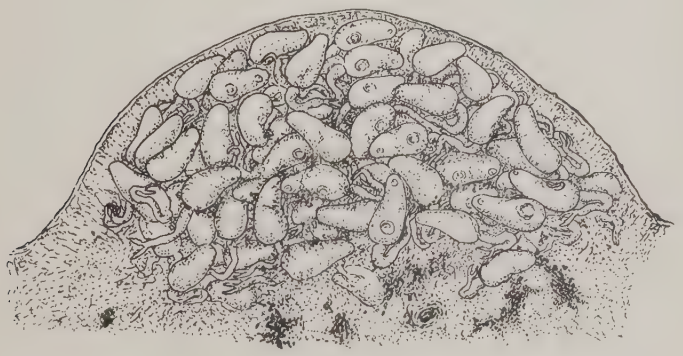


FIG. 7. — Cercaires de *S. mansoni* ayant évolué sur place dans un tentacule de *P. glabratus* (exemplaire 1 de 31'/XXVIII). Dessin exécuté le 43e jour de l'infection expérimentale.

Parmi les *procédés physiques*, on peut conseiller le comblement des collections d'eau inutiles ou leur mise à sec par un pompage régulier (1), la régularisation des canaux d'irrigation et de drainage, et, mieux encore, l'utilisation des drains en ciment dans lesquels la rapidité du courant s'opposerait au développement des mollusques. L'idéal

(1) D'après ce que nous avons vu à Pointe-à-Pitre (Guadeloupe), en compagnie du Médecin-Commandant Jolly, il serait peut-être possible de recevoir toute l'eau des canaux, pendant la saison sèche tout au moins, dans des fossés d'où elle pourrait être rejetée à la mer par des pompes ; mais il faudrait en outre organiser un service spécial de voirie pour récolter les déjections qui actuellement sont jetées dans les canaux bordant les rues.

serait de mettre ces canaux à l'abri des déjections humaines, mais cette protection ne pourra être obtenue qu'après de longues années de propagande hygiénique. Cette campagne a été commencée à Caracas où des tuyaux en ciment remplaceront un jour les canaux à ciel ouvert qui constituent un danger pour les populations (J. A. Scott, 1938; A. Gabaldon, 1939).

La récolte manuelle des planorbes, méthode qui s'est montrée efficace dans le cas des *Oncomelania* au Japon, serait bien difficile à réaliser.

Comme *moyens chimiques*, nous pourrons utiliser l'eau de mer quand cela sera possible; cependant, comme nous l'avons signalé en parlant de la résistance des planorbes (p. 12), il faudrait que son action puisse se faire sentir plusieurs jours de suite, à un taux d'au moins 35 ou 40 p. 100, pour pouvoir détruire ces animaux. Comme tous les mollusques sont sensibles à l'action du sulfate de cuivre, du carbonate de cuivre, de la chaux vive et du sulfate d'ammoniaque, ces substances pourront être utilisées si les conditions économiques le permettent. L'acclimatation de l'arbre africain *Balanites ægyptiaca*, dont les fruits sont toxiques pour les mollusques, ainsi qu'Archibald (1933) l'a démontré au Soudan, mériterait également d'être tentée.

En ce qui concerne les *procédés biologiques*, parmi lesquels se place l'alternance d'irrigation dans des canaux mis à sec tous les 15 jours, l'étude de la résistance des planorbes à la dessiccation montre que cette méthode n'est pas applicable. Le mieux serait de favoriser la multiplication des ennemis naturels des planorbes. Parmi les mammifères, bien peu s'attaquent aux mollusques d'eau douce, et parmi les oiseaux, il n'y a guère que quelques palmipèdes, les canards en particulier, qui se nourrissent occasionnellement de ces animaux. Les échassiers, si abondants dans certaines régions, semblent très indifférents et ne consomment pas les mollusques aquatiques qui pullulent dans les canaux mis à sec. Les tortues, les petits poissons affamés peuvent au laboratoire manger de jeunes mollusques, mais leur rôle dans la nature doit être bien faible, à en juger par leur nombre dans les lieux où les planorbes abondent également. Certaines petites sangsues du genre *Helobdella* se rencontrent souvent dans les mollusques récoltés, mais elles sont toujours rares dans la nature et jouent un rôle très effacé (1).

(1) Dans les élevages au laboratoire, il faut bien vérifier qu'aucun exemplaire d'*Helobdella stagnalis* ne se trouve parmi les plantes aquatiques introduites dans les bocaux afin de purifier l'eau, car une seule de ces sangsues peut détruire de nombreux mollusques. C'est ainsi que nous avons perdu un élevage prospère de *Bithynia leachi* qui nous avait été aimablement adressé du Danemark par MM. Wesenberg-Lund et Kaj Berg en juin 1939 (Exp. 1256/XXVI).

Il est certain que divers insectes aquatiques s'attaquent aux planorbes, mais comme pour tous les ennemis naturels des mollusques, il n'y a aucun moyen pratique de les multiplier et de rompre l'équilibre biologique qui s'est établi peu à peu dans les peuplements mixtes d'animaux.

Parmi les trématodes parasites des planorbes, nous n'en connaissons aucun produisant une castration parasitaire complète, susceptible d'empêcher la ponte et de réduire leur nombre, comme on l'a observé au Japon où un trématode parasite des canards a été utilisé afin de détruire les *Bythinia* chez lesquelles se fait l'évolution de *Clonorchis sinensis* (1).

Résumé

La *destruction* des *Planorbis glabratus* (= *P. guadeloupensis*), hôtes intermédiaires de *Schistosoma mansoni* en Amérique, étant dans bien des circonstances le procédé le plus économique pour lutter contre la bilharziose intestinale, il est nécessaire de connaître parfaitement la biologie de ce mollusque. C'est pourquoi nos observations ont porté sur l'habitat naturel au Venezuela et à la Guadeloupe de *Planorbis glabratus*, sa résistance à l'eau de mer, sa résistance à la dessiccation de ses gîtes, la résistance des exemplaires parasités par *S. mansoni*, son mode d'élevage, l'érosion de la coquille et les diverses théories émises pour la justifier.

Divers faits concernant l'accouplement, l'autofécondation, les conditions déterminant la ponte ont été étudiés par nous, ainsi que la fécondité des planorbes, la fertilité de leurs pontes et la résistance qu'elles opposent à la dessiccation.

La présence de nombreuses cercaires dans les œufs des planorbes infectés, phénomène probablement général, est signalée pour la première fois.

Nous avons décrit le développement et les conditions qui le déterminent ainsi que le rôle pathogène de *P. glabratus*.

Les tentacules de *Planorbis glabratus* sont souvent envahis par les miracidies de *Schistosoma mansoni* comme l'avait déjà signalé A. Lutz. Nous avons constaté que l'évolution des cercaires peut se faire

(1) Lors de notre visite à l'Institut Kitasato de Tokyo, en décembre 1935, le Dr Nagano, assistant du Professeur Miyajima, nous a tenu au courant de ses recherches sur l'utilisation du trématode *Notocotyle attenuatum* dans la lutte contre les *Bythinia striatula*. Comme depuis cette époque nous n'avons trouvé aucune référence bibliographique sur ce sujet, nous ne savons pas si cette expérience transportée du laboratoire dans la nature a donné des résultats satisfaisants.

sur place, dans les sporocystes tentaculaires, ce qui montre que l'émigration des sporocystes-fils dans l'hépato-pancréas du mollusque n'est pas un phénomène nécessaire.

Enfin, nous avons passé en revue quelques procédés de destruction des mollusques.

Bibliographie

Adams (L. E.). — Erosion of epidermis due to absence of carbonate of lime. *J. Conch. Leeds*, XVIII, 1927, p. 130.

Archibald (R. G.). — The endemiology and epidemiology of schistosomiasis in the Sudan. *Journ. Trop. Med. a Hyg.*, XXXVI, 1933, p. 345.

Archibald (R. G.) et Marshall (A.). — A descriptive study of the cercaria of *Schistosoma mansoni* in the Sudan. *Journ. Trop. Med. and Hyg.*, XXXV, 1932, pp. 257-259.

Barlow (C. H.). — The effect of the « winter rotation » of water upon snails involved in the spread of schistosomiasis in Egypt, 1930-1931 and 1931-1932. *Am. Journ. Hyg.*, XVII, 1933, pp. 724-742.

— Further studies of the revival after drying, of the snail host of the human schistosomes of Egypt. *Am. Journ. Hyg.*, XXII, 1935, pp. 376-391.

Bornet (J.) et Flahaut (C.). — Sur quelques plantes vivant dans le test calcaire des mollusques. *Bull. Soc. Bot. France*, XXXVI, 1889, pp. 147-176.

Brumpt (E.). — Reproduction des hirudinées. Thèse de doctorat ès sciences. *Mém. Soc. Zool. de France*, XXIII, 1901, 156 pages et 60 figures.

— Étude de l'autofécondation du mollusque aquatique pulmoné, *Bullinus contortus*. *C. R. Acad. Sc. Paris*, CLXXXVI, 1928, p. 1012.

— *Schistosoma bovis* et *Schistosoma mansoni* ne sont pas transmis par *Planorbis* (*Indoplanorbis*) *exustus*. Observations biologiques concernant ce planorbe (autofécondation, érosion de la coquille, élevage, etc.). *Ann. Parasit.*, XIV, 1936, pp. 464-471, 1 pl.

— Confirmation des observations de Lutz (A.) sur les lésions tentaculaires de *Planorbis glabratus* (= *P. guadeloupensis*) déterminées par l'évolution sur place des miracidies de *Schistosoma mansoni*. *C. R. Soc. Biol.*, CXXXIII, 20 avril 1940, p. 625.

Chodat. — Sur les algues perforantes d'eau douce. *Bull. Hb. Boissier*, 1897-1898.

Clessin (S.). — Die corrosion der Süsswasser-Bivalven. *Correspondenzbl. Zool. Miner. Ver. Regens.*, XXV, 1871, pp. 125-130.

Cohn (F.). — Ueber Erosion von Kalkgestein durch Algen. *Schles. Ges.*, 1893, Bol. Sect., pp. 19-22.

Cole (W.). — Egg-laying in two species of *Planorbis*. *Amer. Nat. N. Y.*, LIX, 1925, p. 284.

Colton (H. S.). — Self fertilisation in *Lymnaea*. *Proc. Acad. Nat. Sc. Phila.*, 1912, pp. 173-183.

— Self fertilisation in the air breathing ponds snails. *Biol. Bull.*, XXXV, 1918, pp. 48-49.

— Ten years of self fertilized line of *Lymnaea columella*. *Proc. Am. Soc. Zool. in Anat. Record*, XXIII, 1922, p. 97.

Cooper (J. E.). — Note on decollated shells. *Journ. of Conchology*, XIII, 1910, p. 14.

Crabb (E. D.). — Genetic experiments with pond snails *Lymnaea* and *Physa*. *Ann. nat.*, LXI, 1927, pp. 54-67.

— Anatomy and function of the reproductive system in the snail *Lymnaea stagnalis appressa* Say. *Biol. Bull.*, 1927.

— The fertilisation process in the snail *Lymnaea stagnalis appressa* Say. *Biol. Bull.*, LIII, août 1927, pp. 67-109.

— Self fertilisation in the pond snail, *Lymnaea palustris*. *Trans. Amer. Microscop. Soc.*, XLII, 1928, pp. 82-90.

Dollfus (R. Ph.). — Résumé de nos principales connaissances pratiques sur les maladies et les ennemis de l'huître. *Office Sc. et Techn. des pêches maritimes*. Paris. Notes et Mém., n° 7, 1921.

Faust (E. C.) et Hoffman (W. A.). — Studies on schistosomiasis mansoni in Puerto Rico. III Biological Studies. 1. The extra-mammalian phases of the life cycle. *Puerto Rico Journ. Pub. Health and Trop. Med.*, X, 1934, pp. 1-97.

Fischer (P.). — Note sur l'érosion du têt chez quelques coquilles fluviatiles univalves. *Journ. de Conchyl.*, III, 1852, pp. 303-310.

Fremy (P.). — Les algues perforantes. *Mém. Soc. Sc. Nat. et Math. de Cherbourg*, XLII, 1936.

Frömming (E.). — Untersuchungen über den Einfluss der Härte des Wohn-Gewassers auf das Vorkommen unserer Süswasser-Mollusken. *Int. Rev. Hydrob.*, Leipzig, XXXVI, 1938, pp. 531-561.

Gabaldon (A.). — Informe annual (1938). *Boletin Ministerio Sanid. y Assist. soc.*, IV, 1939, p. 13.

Gordon (R. M.), Davey (T. H.) et Peaston (H.). — The transmission of human bilharziasis in Sierra Leone, with an account of the life-cycle of the schistosomes concerned, *S. mansoni* and *S. hæmatobium*. *Ann. Trop. Med. and Parasit.*, XXVIII, 1934, pp. 323-418, 7 pls.

Grier (N. M.). — On the erosion and thickness of shells of the fresh-water mussels. *The Nautilus*, XXXIV, 1920, pp. 15-22.

Hoffman (W. A.) et Faust (E. C.). — Studies on schistosomiasis in Puerto Rico. II. The epidemiology and geographical distribution of Schistosomiasis mansoni in Puerto Rico. *Puerto Rico Journ. Pub. Health and Trop. Med.*, IX, 1934, pp. 228-282.

Ikeda (K.). — Cytogenetic studies on the self fertilisation of *Philomycus bilineatus* Benson. *J. Sci. Hirosima*, B. I, Zool., V, 1937, p. 67.

Krull (W. H.). — Importance of laboratory raised snails in helminthology with life history notes of *Gyraulus parvus*. *Occas. Pas. Mas. Zool. Univ. Michigan*, CCXXVI, 1931, p. 1.

Lami (R.). — Les algues perforantes d'*Hoplangia durotrix* Gasse, madréporaire de la Rance. *Bull. Lab. mar. de Dinard*, X, 1939, pp. 32-52, 1 pl.

Langeron (M.). — Contribution à l'étude de la flore fossile de Sézanne. 3e fascicule. Nouvelles considérations sur les formations travertineuses anciennes et contemporaines. *Bull. Soc. Hist. Nat. Autun*, XV, 1902, p. 3.

Larambergue (M. de). — Étude de l'autofécondation chez les Gastéropodes pulmonés. Recherches sur l'aphallie et sur la fécondation chez *Bullinus* (*Isidora*) *contortus* Michaud. *Bull. Biol. France et Belgique*, LXXIII, 1939, pp. 19-231, 5 pls.

Legendre (R.). — Recherches sur le nanisme expérimental, influence des excreta. *Arch. Zool. exp. gen. Paris*, 4e s., VIII, 1908, p. 77.

Lutz (A.). — *Schistosomum mansoni* and Schistosomiasis observed in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, XI, 1919, pp. 109-140.

Marriott (H. de W.). — The fresh-water mollusca of Sale Meadow, Cheshire. *J. Conch. Leeds*, XVIII, 1927, p. 140.

Moynier de Villepoix (R.). — Recherches sur la formation et l'accroissement de la coquille des mollusques. *Journ. Anat. Physiol. Paris*, XXVIII, 1892, pp. 461-518, 582-674.

Noll (F. C.). — *Micrococcus conchivorus* (Vorläufige Mitheilung). *Zoolog. Garten*, XXIII, 1882, pp. 156-159.

Pascher (A.). — Die Süsswasserflora Deutschlands, Œsterreiches und der Schweiz. Heft 12, *Cyanophyceae*, Jena, Fischer, 1925. Heft 6, *Chlorophyceae*, III, Jena, Fischer, 1914.

Pelseneer (P.). — Périodicité diurne dans la ponte chez les mollusques. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, 1926, pp. 34-38.

Pilsbry (H. A.). — Review of the *Planorbidae* of Florida, with note on other members of the family. *Proc. Acad. Nat. Sc. Philad.*, LXXXVI, 1934, pp. 29-66.

Pilsbry (H. A.) et Bequaert (J.). — The aquatic molluscs of the Belgian Congo, with a geographical and ecological account of Congo Malacology. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, LIII, art. II, 1927, pp. 69-602.

Popovici-Baznosanu (A.). — L'influence de quelques facteurs sur l'accroissement des Gastéropodes d'eau douce. *Arch. Zool. exp. gén. Paris*, LX, 1921, p. 501.

Precht (H.). — Zur Kopulation und Eiablage einiger Planorbiden. *Zool. Anz.* Leipzig, CXV, 1936, p. 80.

Saulcy (L.). — Note sur l'Ampullaire œil d'Ammon (*Ampullaria effusa* Lamarck). *Journ. de Conchyl.*, II, 1851, pp. 132-140.

Scott (J. A.). — Schistosomiasis in mountain valleys of Venezuela. *Journ. Parasit.*, suppl., XXIV, 1938, p. 11.

— The relation of Schistosomiasis to the control of malaria. *Third International Congress of Microbiology*, New-York, 2-9 septembre 1939; *Report of Proceedings*, N.-Y., 1940, p. 451.

EXPLICATION DE LA PLANCHE II

Fig. 1 et 2. — Canaux d'irrigation des environs du Caire, à sec depuis deux mois, dans lesquels il est possible de récolter comme le fait le Dr C. H. Barlow, des planorbes et des bullins en état d'anhydrobiose.

Fig. 3. — Fond à sec depuis plusieurs jours d'un canal d'irrigation d'une plantation de canne à sucre de Villa de Cura (Venezuela). Les taches blanches orbiculaires sont des *Planorbis glabratus* en anhydrobiose.

Fig. 4. — Une rue dans la banlieue de Pointe-à-Pitre. Canal égout riche en planorbes infectés, au pied des maisons.

Fig. 5. — Un bassin du square Pichon à Basse-Terre, renfermant de nombreux planorbes infectés.

Fig. 6. — Une armoire d'élevage de divers mollusques au laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris. Au bas de l'armoire, bocaux renfermant de l'eau à la température de l'étuve pour renouveler celle des élevages. L'étuve est chauffée par des lampes électriques. Ces mêmes armoires sont utilisées avec succès pour l'élevage en série des Culicidés et des Triatomidés.

1
2
4
3
6

Semper (C.). — Ueber die Wachsthumsbedingungen des *Lymnaeus stagnalis*. *Arb. Zool. Zootom. Inst. Wurzburg*, I, 1874, p. 137.

Shrubsole (G. W.). — On the erosion of certain fresh-water shells. *Journ. of Conch.*, V, 1886, pp. 66-71.

Varigny (H. de). — Note sur la période de croissance chez *Limnaea stagnalis*. *Bull. Mus. Hist. Nat. Paris*, I, 1895, p. 131.

Vianna Martins (A.). — *Contribuçâo ao estudo de genero* Australorbis *Pilsbry*, 1934. Trabalho do Instituto biologico Ezequiel Dias, Bello Horizonte, Brésil, 1938, in-8° de 66 pages, 6 pls..

Weld (C.). — Ueber die Bedeutung der in den Schalen von manchen Acephalen und Gasteropoden vorkommenden Canale. *Sitz. Ber. Ak. Wiss. Wien, Naturw. K.*, XXXIII, 1859, pp. 451-472, pls. I-III.

Whitfield (R. P.). — Description of *Lymnaea* (*Bulimnaea*) *megasoma*, with account of changes produced in the off-spring by unfavourable conditions of life. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.*, N.-Y., I, 1882, p. 35.

Willem (V.). — Observations sur la respiration cutanée des Limnées et son influence sur leur croissance. *Bull. Acad. Belg. Sci.*, XXXII, 1896, p. 563.

Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris
(Directeur : Professeur E. Brumpt).

NOUVELLES RECHERCHES SUR LA MORPHOLOGIE ET SUR L'ÉVOLUTION D'*ICOSIELLA NEGLECTA* (DIESING 1851), FILAIRE COMMUNE DE LA GRENOUILLE VERTE

Par C. DESPORTES

La connaissance de l'évolution de filaires parasites de Batraciens est une acquisition récente. En effet, les cycles évolutifs établis — au moins expérimentalement — pour de telles filaires apparaissent pour la première fois dans la littérature en 1939, à la suite des travaux publiés par O. R. Causey : ces cycles sont ceux de trois espèces appartenant à un même genre, *Foleyella* Seurat, et parasites de grenouilles américaines.

Pour l'une des trois espèces citées par Causey, *Foleyella dolichoptera* E. E. Wehr et O. R. Causey 1939, on peut noter que la découverte des stades larvaires chez les hôtes vecteurs — des Culicidés — a précédé sinon la découverte, au moins la description de la forme adulte.

Il en a été tout autrement d'*Icosiella neglecta* (Diesing 1851), filaire banale de la Grenouille verte, dont les premiers spécimens semblent déjà figurer dans le Catalogue des Entozoaires du Musée de Vienne de 1811, dont la microfilaire fut découverte en 1841, mais sur l'évolution de laquelle toutes les hypothèses émises et recherches entreprises depuis lors sont demeurées stériles.

C'est pourquoi nous avons cru intéressant de donner dans le présent travail les quelques résultats obtenus à la suite d'une première série de recherches sur le cycle d'*Icosiella neglecta* (Diesing), entreprises à la Station de Parasitologie expérimentale de Richelieu (Indre-et-Loire).

Nous voulons cependant auparavant rappeler brièvement l'historique de la question et apporter quelques précisions sur la morphologie de ce nématode, puisqu'il y a peu d'années seulement, le genre auquel il appartient a été mis en doute et que les synonymies d'*I. neglecta* ont été l'objet de plusieurs confusions.

Annales de Parasitologie, t. XVIII, nos 1-2-3. — 1941, p. 46-67.

Historique

Enumérant la succession chronologique des travaux concernant cette filaire, nous la voyons figurer pour la première fois dans le Catalogue des Entozoaires du Musée de Vienne de 1811 : les spécimens, récoltés sous la peau de *Rana esculenta*, dix-neuf fois en été, une fois en hiver, à la dissection d'un total de 1.290 grenouilles, sont étiquetés « Filaria sp. d. pell. » ; un des exemplaires est envoyé au Muséum de Paris.

Cependant, en 1819, Rudolphi décrit sous le nom de *Filaria rubella* Rud., un nématode rougeâtre trouvé d'abord par Klug, à Berlin, dans l'estomac de *Rana temporaria*, puis, par Rudolphi lui-même, enkysté dans le mésentère et dans de petits tubercules de la paroi externe de l'estomac et de l'intestin de la Grenouille verte : Rudolphi émet alors l'hypothèse que *Filaria ranæ esculentæ* du Catalogue des Entozoaires de Vienne, espèce non étudiée par lui, et qu'il range parmi les espèces douteuses, pourrait être la même espèce que *Filaria rubella*.

Puis Valentin, dans un travail publié en 1841, signale l'existence, dans le sang de la patte de la Grenouille commune, d'*Anguillula intestinalis* : l'auteur considère la présence de ces vers dans le système circulatoire comme étant liée aux migrations, de faible durée, des formes jeunes se dirigeant vers les organes propres à leur développement.

A peu près à la même époque, Vogt (1842) rencontre les mêmes petits vers dans les vaisseaux des grenouilles, mais signale en outre leur présence dans des kystes viscéraux et péritonéaux ; enfin, Vogt découvre, entre le foie et le péricarde, deux vers adultes de plus de 27 millimètres ; il en conclut à une évolution comportant trois stades : le premier dans les vaisseaux ; puis un stade d'accroissement dans les kystes ; enfin libération des formes adultes dans la cavité abdominale où s'effectue la reproduction.

Une étude résumée des travaux précédents se trouve dans l'*Histoire des Helminthes* de F. Dujardin (1845). L'hypothèse de Rudolphi est alors acceptée par ce dernier auteur et c'est sous le nom de « Fil. rougeâtre. *Fil. rubella* Rud. » que figurent, en même temps que les exemplaires de Rudolphi, d'une part la filaire envoyée en 1816 par le Musée de Vienne à Paris (étudiée et décrite par Dujardin), d'autre part les petits nématoïdes du sang découverts par Valentin puis par Vogt.

Cependant C. M. Diesing n'acceptera pas cette synonymie : dans

Systema Helminthum, de 1851, une distinction est établie entre la filaire sous-cutanée de la Grenouille verte, *Filaria ranæ esculentæ* Cat. Ent. Vienn. 24, que Diesing nomme *Filaria neglecta* Diesing, et la filaire enkystée dans le mésentère et dans les parois de l'estomac et de l'intestin, *Filaria rubella* Rudolphi, de laquelle *Filaria ranæ esculentæ* Valentin, espèce douteuse, serait peut-être un stade évolutif: « *An Filaria rubella ... in evolutione versans*?... ».

Le rapport entre les formes du sang et les vers adultes apparaîtra beaucoup mieux, trois ans plus tard, à la suite d'une constatation de Vulpian (1854). Cet auteur remarque en effet que les grenouilles renfermant les « nématoïdes » du sang hébergent simultanément, au milieu des gros vaisseaux qui se dirigent du cœur vers le bras et des nerfs du plexus brachial, plus rarement dans les muscles sous-hyoïdiens, des vers femelles renfermant des embryons semblables à ceux du sang. En outre, il ne retrouve pas, malgré des recherches attentives, les formes enkystées signalées par Vogt. Ces très importantes constatations de Vulpian ne sont malheureusement pas accompagnées de description de l'adulte et l'étude bibliographique n'a pas été approfondie, de sorte que rien, sinon la localisation des adultes dans l'hôte, ne permet de penser qu'il s'agit de *Filaria neglecta* Diesing plutôt que d'une autre espèce ; il semble, au contraire, à la lecture de ce travail, que Vogt et Vulpian soient les premiers auteurs qui aient signalé des formes adultes chez les grenouilles.

C'est pourquoi, s'en référant à la publication de Vulpian, de Nabias et Sabrazès (1892) ont écrit que la découverte de l'embryon de « la Filaire du sang des grenouilles » a précédé celle de l'adulte. Le travail de Nabias et Sabrazès est pourtant extrêmement important : outre la découverte du mâle et une bonne description des adultes, ces helminthologistes précisent la localisation chez l'hôte de la filaire : « le véritable habitat de ces animalicules est le tissu conjonctif sous-cutané et intramusculaire ». Il est donc bien exact que la filaire dont parlent ces auteurs est la *Filaria neglecta* de Diesing. Enfin la notion, dans l'évolution de la filaire, d'hôte intermédiaire « qu'il faudra chercher parmi les animaux qui vivent dans les mares aux grenouilles » apparaît pour la première fois dans ce mémoire.

Pourtant, en 1895, dans l'ouvrage intitulé *Les Vers du Sang* de R. Blanchard nous trouvons de nouveau réunies — « par erreur évidemment », a dit Railliet (1916) — les espèces décrites par Rudolphi, Valentin, Vogt, Vulpian et de Nabias et Sabrazès sous le même nom de « *Filaria rubella* Rudolphi, 1819, syn. : *Filaria ranæ esculentæ*, Valentin, 1841 ».

La même erreur est commise en 1909 par O. Linstow, qui désigne

sous le nom de *Filaria rubella* Rud. la filaire qui habite « im Unterhautzellgewebe und intramuskulären Bindegewebe von *Rana temporaria* L. und *Rana esculenta* L. » et, en 1912, par A. Porta, dans une note concernant des recherches sur la transmission par des Hirudinés de *Filaria rubella* Rud., ce dernier nom étant appliqué à des nématodes de la même espèce que ceux étudiés par de Nabias et Sabrazès, c'est-à-dire les vrais *neglecta*.

Mais, dans une étude sur les filaires des Batraciens, de 1916, A. Railliet, comme Diesing en 1851, sépare *Filaria neglecta* Dies. (*F. ranæ esculentæ* C. E. V.), filaire commune du tissu conjonctif des grenouilles, de *Filaria* (?) *rubella* Rud. 1819, dont le type habite l'estomac de *Rana temporaria*.

La même année, *Filaria rubella* Rudolphi e. p. est mise par L. G. Seurat (1916) en synonymie douteuse de *Filaria jubæ* Seurat. La synonymie est confirmée l'année suivante (Seurat 1917). Cet helminthologiste définira en outre le genre *Icosiella*, dont *I. neglecta* (Diesing 1851) est le type. L'étude morphologique faite par Seurat semble parfaitement justifier la création du nouveau genre, mais nous regrettons de ne pas voir la description accompagnée de figures.

Une reproduction de cette diagnose du genre *Icosiella*, donnée par G. Seurat, se trouve dans *Nematode Parasites of Vertebrates* (Yorke et Maplestone 1926) et dans *The Nematoda as Parasites of Amphibia* de A. C. Walton (1935) (1).

Cependant E. E. Wehr (1935) considère (peut-être par suite du manque de figures détaillées de ce ver) le genre auquel il appartient comme incertain : on voit en effet mentionné, parmi les *Dipetalonematinæ*, « ? *Icosiella*, 1917 » (2).

Il devenait donc nécessaire pour nous, avant de poursuivre des recherches sur l'évolution de la filaire de *Rana esculenta*, d'entreprendre une détermination précise des exemplaires récoltés. Nous avons pu ainsi nous convaincre que l'ensemble des caractères de ces vers était propre à l'espèce *I. neglecta* telle qu'elle a été définie par Seurat.

En particulier, rien ne la rapproche des espèces parasites de Batra-

(1) Walton met simultanément *Filaria rubella* Rud. en synonymie d'*Icosiella neglecta* (Dies. 1851) et de *Filaria jubæ* Seurat 1916. Il rapporte également à la première espèce des microfilaires voisines de « *Filaria Ranae esculentae* » Valentin, décrites par Mathis et Léger (1911).

(2) E. E. Wehr (p. 86) a remplacé la sous-famille des *Setarinae* Yorke et Maplestone 1926, par celle des *Dicheilonematinae* E. E. Wehr, dont il supprime les genres *Dipetalonema* et *Icosiella* « so different from *Serratospiculum* and *Dicheilonema* that they cannot possibly be placed together... » Pourtant I. Skrjabin et N. P. Schikhobalova (1936) adoptent encore la classification de Yorke et Maplestone pour ces deux genres.

ciens appartenant aux genres *Foleyella* et *Chandlerella*, dont les femelles sont amphidelphes et dont les mâles présentent soit des papilles génitales bien visibles, souvent accompagnées d'ailes caudales (*Foleyella*), soit des spicules égaux (*Chandlerella*).

Il est, par contre, assez difficile de différencier morphologiquement cette filaire d'une espèce américaine, décrite par A. C. Walton (1927), *Icosiella quadrituberculata* (Leidy 1856) [= *Icosiella solitaria* (Leidy 1856)], parasite de *Rana catesbeiana* et de *Rana pipiens* (1).

Néanmoins nous considérons la localisation de cette grande espèce dans des kystes mésentériques comme un argument suffisant pour l'écarter de notre diagnose et déterminons les spécimens récoltés comme étant typiquement *Icosiella neglecta* Seurat 1917.

Morphologie.

Afin d'éviter une description qui ne serait qu'une simple répétition de celle donnée par G. Seurat, nous nous bornerons à donner de ces vers des figures exécutées à la chambre claire.

Dans le détail cependant, il y a lieu de préciser les quelques points suivants :

1° Nous avons noté, qu'en général, la longueur des femelles était supérieure à 20,950, chiffre publié par Seurat, et plus conforme aux longueurs de 25 à 31 mm. enregistrées par de Nabias et Sabrazès : nos plus grands exemplaires atteignent en effet 37,5 et 39 mm.; une femelle de 24 mm. renferme des œufs et des embryons; la plus petite que nous possédions, longue de 19 mm., renferme seulement des œufs en voie d'évolution. La longueur des mâles que nous avons récoltés oscille entre 10 et 11 mm., cependant un spécimen atteint 13 mm. 5.

2° L'observation sur le vivant (exceptionnellement sur des exemplaires fixés) de l'extrémité antérieure de ces vers montre, accompagnant les papilles submédianes et les quatre dents, l'existence de petites saillies situées latéralement, une de chaque côté entre les papilles submédianes dorsale et ventrale, très antérieurement : il se peut que ces faibles organes représentent les amphides, extrêmement réduites chez ces filaires (fig. 2 A et 2 B).

3° Nous n'avons jamais observé sur nos exemplaires de réceptacles séminaux ovoïdes, ainsi que les a définis Seurat, mais cylindriques et se continuant graduellement par les utérus (fig. 1 B).

(1) La synonymie de *I. quadrituberculata* et de *I. solitaria*, appelées primitivement *Isociella* par Walton, est donnée par cet auteur en 1935.

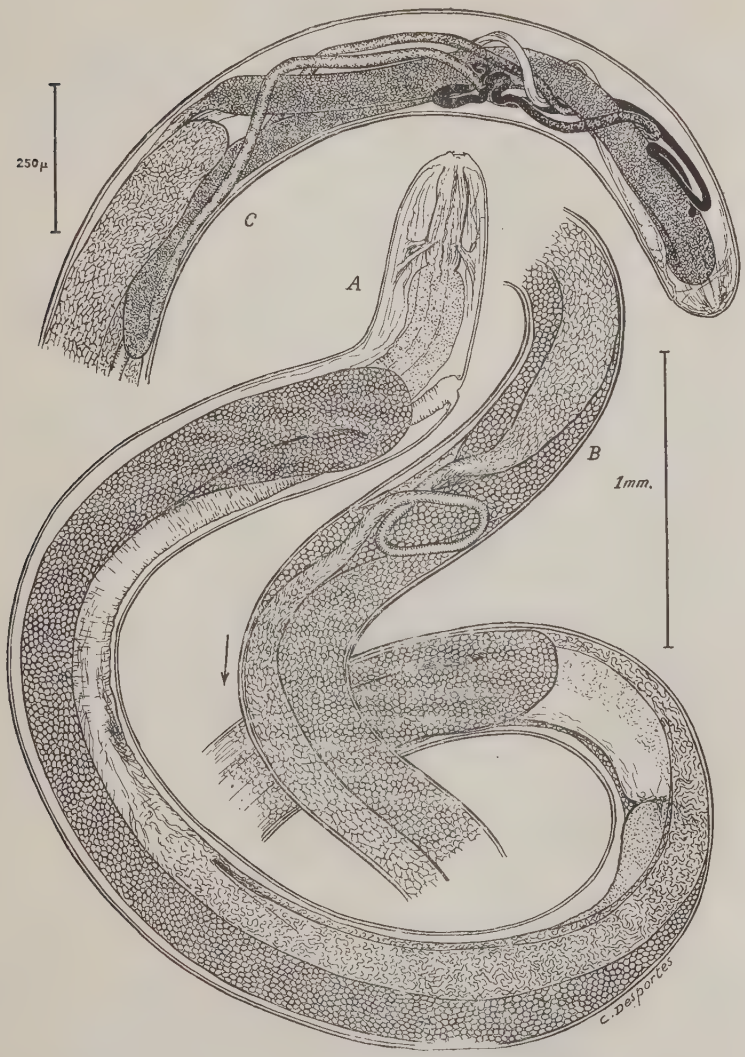


Fig. 1. — *Icosiella neglecta* (Dies. 1851). — A, extrémité antérieure d'une femelle de 29 mm.; B, corps de la même femelle au niveau d'un des oviductes : ce tube se prolonge graduellement par le réceptacle séminal cylindrique qui se continue lui-même antérieurement (en direction de la flèche) par l'utérus; C, extrémité postérieure d'une jeune femelle de 24 mm.

4° La forme et les caractères des spicules d'*Icosiella neglecta* méritent également une attention particulière.

Nous avons étudié ces spicules chez sept mâles : les dimensions de chacun des spicules chez six d'entre eux étaient, en millimètres, les suivantes :

Exemplaire	Spicule droit	Spicule gauche
1 (long de 10 mm.) . . .	270 μ	110 μ
2.	303 μ	112 μ
3 (long de 13 mm. 5) . . .	115 μ	285 μ
4.	342 μ	112 μ
5.	330 μ	104 μ
6.	338 μ	102 μ

Ce tableau permet immédiatement de se rendre compte qu'en général le spicule droit est le plus long (voir aussi fig. 2-D et 2-E) : il en était ainsi dans six cas sur sept examinés, mais dans le dernier cas (cas n° 3) existe la disposition inverse : le spicule droit est le plus petit. Alors que cette dernière disposition est presque générale chez les Nématodes à spicules inégaux, la première, dans laquelle le spicule droit est le plus long, a déjà été observée : elle existe notamment chez *Heterakis gallinæ* Gmelin.

Ce qu'il y a cependant de remarquable dans le cas d'*Icosiella neglecta*, c'est de voir simultanément les deux dispositions chez une même espèce : la seconde est-elle vraiment plus rare que la première, peut-être même tératologique ? ne disposant que de sept exemplaires, il est difficile d'avoir une opinion. Toutefois les deux dispositions existent réellement, car, s'il s'agissait par exemple d'un simple déplacement de l'un des spicules, l'asymétrie du petit spicule ne serait pas elle-même également inversée, comme on l'observe en comparant le spicule le plus court dans les deux cas. Nous décrirons donc les spicules dans chacune de ces deux dispositions.

1. — Le spicule droit est le plus long (cas observé six fois) (fig. 2-D).

Le spicule droit est essentiellement constitué par un axe creux assez lisse, le *capitulum* ne se distinguant pas du *calamus*, légèrement arqué et terminé distalement par un long biseau (*lamina*) sur les côtés duquel naissent deux ailes, droite et gauche, faiblement striées, soutendues le long de leur bord libre par une côte longitudinale très grêle. Ces deux ailes dépassent longuement la pointe du biseau et se soudent alors l'une à l'autre le long de leur bord dorsal, bord qui prolonge la

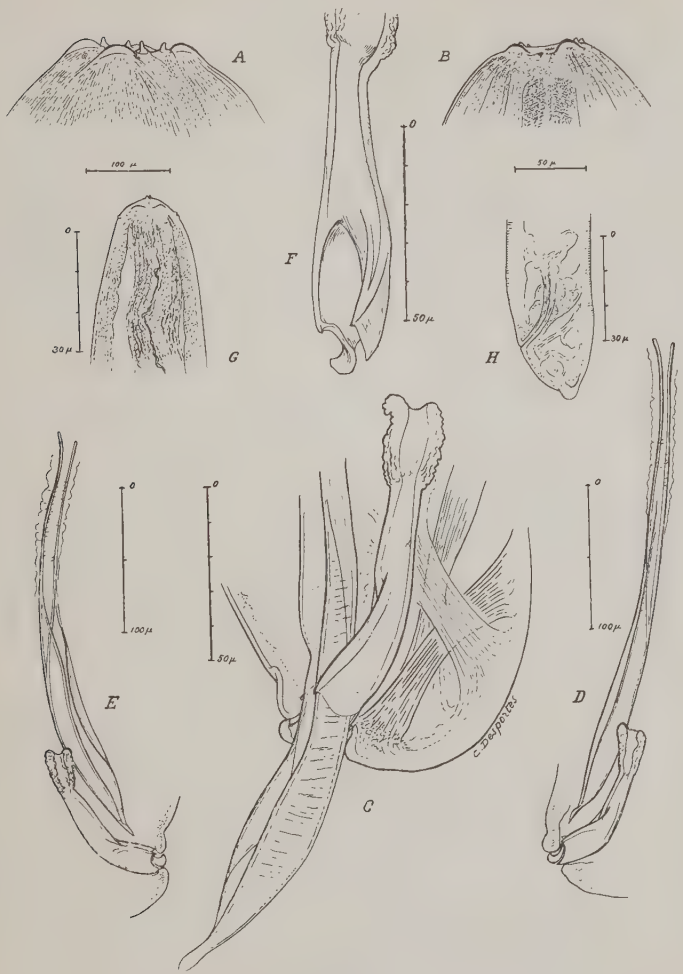


FIG. 2. — A-F, *Icosiella neglecta* (Dies. 1851). — A, vue latéro-dorsale de la calotte céphalique de la femelle; B, vue latérale de la calotte céphalique du mâle; C, extrémité postérieure du mâle : le grand spicule est engagé dans la gouttière formée par les ailes du petit spicule; D, disposition spiculaire rencontrée dans six cas examinés : le grand spicule est à droite; E, disposition spiculaire rencontrée dans un cas : le grand spicule est à gauche : l'inversion dans la disposition des spicules est accompagnée d'une inversion dans la forme du petit spicule; F, petit spicule vu de face; G, extrémité antérieure d'une des larves infectieuses spontanément hébergées par *Forcipomyia velox*; H, extrémité postérieure de la même larve.

pointe du biseau, pour constituer une gouttière profonde ouverte ventralement et terminée par une fine languette.

Le spicule gauche comprend également un axe creux et deux ailes, mais l'axe est à peu près rectiligne, granuleux et épaissi dans son tiers proximal (*capitulum*) ; il se termine distalement par un court biseau.

De la base du biseau partent deux côtes arquées, épaisses, franchement obliques par rapport à l'axe du spicule, soutendant des ailes larges dépassant faiblement la pointe du biseau et non soudées l'une à l'autre par leur bord dorsal au delà de cette pointe. L'aile gauche (nous appelons aile gauche celle qui se trouve à gauche dans le corps du ver) de ce spicule, la plus courte, a la forme d'une lame subtriangulaire transparente et porte, à l'extrémité de la côte qui la soutend, un très petit bec ; l'aile droite, également large, mais plus longue, présente deux becs : le premier, très faible, termine la côte qui soutend cette aile et est symétrique de celui de l'aile gauche ; le second, postérieur, bien arqué, semble constitué par la partie distale libre, épaissie et repliée en crochet de l'aile droite (fig. 2-F).

II. — Le spicule gauche est le plus long (cas unique) (fig. 2-E). — Nous n'observons aucune différence entre ce cas et le précédent en ce qui concerne la morphologie du grand spicule, les deux moitiés latérales de ce spicule étant à peu près symétriques, mais nous notons par contre, pour le petit spicule, que l'aile qui porte le grand crochet terminal n'est plus la droite mais la gauche. En d'autres termes, dans chacun de ces deux cas, le grand crochet du petit spicule est toujours situé du même côté que le grand spicule.

Dans quatre des sept cas examinés, où le grand spicule n'était pas profondément retiré, il passait dans la gouttière du petit spicule, dont il émergeait distalement en passant par la fente ménagée entre les deux ailes : les gouttières des deux spicules étaient alors orientées dans le même sens — c'est-à-dire ouvertes ventralement — et emboîtées l'une dans l'autre de telle manière que les côtes bordant les ailes du grand spicule semblaient glisser sous les petits becs terminant les côtes du petit spicule (fig. 2-C) : en somme tout se passe morphologiquement comme si, en l'absence de gorgeret, le petit spicule constitue le guide du grand spicule (1). L'examen sur le vivant permettra seul d'avoir une certitude sur ce point.

Toutefois le petit spicule lui-même n'occupe pas une position fixe :

(1) Nous savons qu'il existe, par contre, des Nématodes à spicules inégaux chez lesquels le grand spicule abrite dans sa gouttière la pointe du spicule le plus court : nous signalons cette disposition chez *Hastospiculum onchocercum* (Ces *Annales*, sous presse).

il s'évagine et sur trois des quatre spécimens précédents (en alcool à 70°), le large bec de ce spicule était appliqué sur la lèvre épaisse qui borde antérieurement le cloaque. Peut-être, lors de l'accouplement, ce large crochet pénètre-t-il dans la vulve de la femelle et maintient-il cet orifice en contact avec le cloaque, agissant à la manière d'un crampon — « a large hook which would be well adapted as a holdfast » ont écrit B. G. et M. G. Chitwood (1938) parlant de ce crochet chez les Nématodes à spicules inégaux — ?

N'ayant jamais rencontré de couples d'Icosielles, il ne nous a pas été permis de vérifier dans le cas particulier une telle hypothèse, néanmoins on peut remarquer que, si elle est exacte, le rôle joué par le petit spicule vis-à-vis du grand prend une importance considérable.

Premières recherches sur la transmission par *Forcipomyia velox* Winn. d'*Icosiella neglecta* (Diesing).

Dès 1906, notre maître, le professeur E. Brumpt (communication verbale), avait remarqué, au cours d'expériences sur la transmission par *Helobdella algira* des trypanosomes (*Trypanosoma inopinatum*) de grenouilles, que les embryons d'Icosielles ne tardaient pas à succomber chez cette sangsue; il constatait les mêmes faits chez *Hemiclepsis marginata*, *Hæmopis sanguisuga* et *Hirudo officinalis*. Les déductions de A. Porta (1912) étaient donc inadmissibles (1).

Ces résultats négatifs orientèrent les recherches vers d'autres vecteurs, en particulier vers les Culicidés (2). Si beaucoup d'expériences ont été faites dans ce sens par différents parasitologues, aucun travail ne semble avoir été publié et rien ne permet de conclure à l'heure actuelle à la transmission possible d'*Icosiella neglecta* par quelque culicidé. Mais, nous ne rejetons pas non plus d'une manière absolue cette transmission, puisque la non-transmission n'a pas davantage été démontrée. Les difficultés auxquelles on se heurte en essayant de faire piquer les grenouilles par les Culicidés n'existent certainement pas toujours dans la nature, il suffit de se rappeler le cycle des différentes *Foleyella* de Batraciens par *Culex* et *Aedes* pour s'en rendre

(1) A. Porta observe, à la dissection de deux *Hirudo officinalis*, 70 jours après les avoir infestées sur une grenouille parasitée, deux larves de nématodes dont la longueur est environ le double de celle des microfilaires : il conclut alors à la possibilité de l'évolution de la filaire chez les Hirudinées et considère, en particulier, *Haemopis sanguisuga* comme pouvant en être le vecteur normal.

(2) Il semble, par contre, qu'aucune expérience n'ait été tentée sur ce point avec des Phlébotomes.

compte ; néanmoins, nous noterons que jamais au cours des heures passées auprès de grenouilles fixées au bord des mares, souvent dans les clairières des bois, nous n'avons observé se posant sur elles un seul Culicidé (ces observations étant effectuées le jour seulement, il est bien évident que nous ne parlons ici que d'espèces diurnes). Par contre, nous avons récolté, dans ces conditions, d'une part, en très grand nombre, *Forcipomyia velox* Winn. 1852, ainsi que nous l'avons indiqué en 1940 (C. Desportes et H. Harant), d'autre part, de petits brachycères, que provisoirement nous rapportons au genre *Atrichops* Verrall. et découverts en juillet à Morlanne (région de Pau). Disons immédiatement que les expériences de transmission d'*Icosiella neglecta* par ces *Rhagionidæ* (= *Leptididæ* auct.) sont restées négatives. Nous avons en effet pu capturer une trentaine de ces mouches — toutes femelles — alors qu'elles se gorgeaient avidemment sur les grenouilles parasitées (1) : la dissection de la moitié d'entre elles, tuées les jours suivants, a montré un grand nombre de microfilaires ingérées qui succombaient toutes, sans évoluer, vers le cinquième jour.

Les premières recherches sur *Forcipomyia velox*, interrompues en septembre 1939, nous ayant appris que les embryons d'*Icosiella neglecta* vivaient parfaitement et subissaient un début d'évolution dans le corps de ces moucherons, 53 heures après l'ingestion, nous avons repris ces recherches pendant l'été 1940.

Les méthodes utilisées pour l'infestation et la capture des Forcipomyies furent les mêmes que celles exposées dans la note de 1940 et qui nous avaient permis d'étudier la biologie de ces nématocères : elles présentent l'avantage de placer l'expérimentation dans des conditions quasi-naturelles, puisque le lien retenant les grenouilles infestées au bord des mares ne peut en aucune manière apporter de modifications à ces conditions. La photographie de la page 62, que nous devons à l'amabilité de notre ami R. Laurent, permet de se rendre compte de la façon dont s'opère cette infestation des moucherons venus spontanément prendre leur repas sur l'hôte. Lorsque ce repas, opéré simultanément par plusieurs animaux semble toucher à sa fin, ils sont capturés au moyen de l'entonnoir retourné.

Si de cette manière, il nous a été possible d'obtenir un grand nombre de *Forcipomyia*, parfois plus d'une centaine en quelques heures (2),

(1) Ces diptères ne s'attaquaient pas à l'homme.

(2) Lorsque le temps est particulièrement ensoleillé et que les femelles viennent en grand nombre piquer les grenouilles, il est également possible de récolter quelques mâles sur les ombellifères qui croissent au voisinage de la mare : c'est ainsi que nous avons pu obtenir deux individus de ce sexe sur les fleurs de la Grande Berce (*Heracleum sphondylium* L.) (fig. 3-A).

jamais, par contre, nous n'avons pu les conserver jusqu'à complète évolution des larves d'Icosielles et quel que fût le modèle de cage réalisé au cours de cette première série d'expériences, les mouches succombaient entre le troisième et le cinquième jour, c'est-à-dire dans un laps de temps au bout duquel les larves de filaires sont loin d'être infectieuses. Ainsi, les mêmes difficultés auxquelles se heurtait D. B. Blacklock en cherchant à réaliser le cycle expérimental d'*Onchocerca volvulus* chez *Simulium damnosum* (premiers travaux) se présentaient dans le cas d'*Icosiella neglecta*. Néanmoins, nous pouvons donner, sur l'évolution de ce nématode, quelques précisions résultant des observations faites au cours de septembre 1940. Nous exprimons notre vive reconnaissance au professeur E. Brumpt, pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter au présent travail, en mettant à notre disposition tout le matériel et les ouvrages qui nous étaient nécessaires, tant à la Station de Richelieu qu'à l'Institut de Parasitologie de Paris.

1. Examen de *Forcipomyia* isolées après les repas infectieux. — La quantité de larves ingérées au cours d'un repas, pris sur des grenouilles généralement bien parasitées, n'est jamais très élevée (1) : nous n'en avons jamais rencontré plus de cinq ou six par exemplaire ; beaucoup de moucherons n'étaient pas parasités (les animaux capturés par lots de 10 à 20, ou davantage, étant très différemment gorgés, il est à peu près impossible de donner actuellement un pourcentage d'infestation consécutive à ces repas).

Les larves puisées au cours d'un même repas subissent toutes très rapidement — déjà dans le sang en voie de digestion — un commencement d'évolution se traduisant par des modifications plus ou moins considérables selon les individus. Peut-être même, cette évolution cesse-t-elle complètement pour certaines larves et que toutes ne parviennent pas au stade infectieux? Il est difficile de le dire dans de telles conditions d'observation, cependant jamais nous n'avons rencontré de larves mortes dans le corps de Forcipomyies sacrifiées.

La première modification subie par la larve est un raccourcissement et un épaississement de tout le corps, sauf de la partie postérieure : celle-ci est aciculée alors que l'extrémité antérieure est bien

(1) Nous nous efforcerons d'établir, au cours de la campagne de 1941, le rapport entre la quantité de larves ingérées par les moucherons et le nombre de microfilaires chez l'hôte, afin de voir s'il y a, comme dans le cas de *Wuchereria bancrofti* (Cobbold), *Onchocerca volvulus* Leuckart ou *Onchocerca caecutiens* Brumpt, concentration des embryons au point de piqûre.

Fig. 3. — A, *Forcipomyia velox* Winn. 1852 ♂ ; B, *Forcipomyia velox* Winn. 1852 ♀ ; C-D, grandes larves de provenance spontanée, logées dans les pattes de *Forcipomyia velox* ; E, larve infectieuse (*l*) émergeant des pièces buccales de *Forcipomyia velox* (*md*, mandibules ; *ep*, épipharynx ; *h*, hypopharynx) ; F, larve infectieuse.

arrondie : l'accroissement de diamètre ne s'accompagne, à ce stade, d'aucune modification appréciable de l'organisation interne.

Les chiffres suivants donnent une idée des modifications de taille que subissent les larves dans le corps de leur hôte pendant les premières heures (fig. 4 B-F).

Microfilaire du sang :	longueur en μ :	87 ;	diamètre max. en μ :	8
Larve âgée de 10 heures :	—	88 ;	—	8
Larve âgée de 32 heures :	—	80 ;	—	10
Larve âgée de 42 heures :	—	77 ;	—	11
Larve âgée de 53 heures :	—	68 ;	—	13
Larve âgée de 72 heures :	—	70 ;	—	14
Larve âgée de 80 heures :	—	53 ;	—	17

Il semble donc que, très tôt, les larves tendent vers la forme dite en saucisse : les mouvements dont sont douées ces jeunes formes sont moins vifs que ceux des microfilaires du sang et se traduisent en général par des déplacements latéraux des extrémités, plus particulièrement de l'extrémité antérieure.

2. Examen de *Forcipomyia* spontanément infestées. — Les dissections d'animaux spontanément infestés, entreprises en septembre 1940 seulement, permirent de découvrir des larves de nématodes généralement très évoluées, parvenues la plupart au stade infectieux et localisées soit dans les muscles du thorax ou des pattes (fig. 3 C-D), soit dans la tête : nous avons même observé dans un cas une larve infectieuse engagée entre les pièces buccales (fig. 3 E) : il est certain que la sortie de la larve, dans le cas particulier, a été déterminée par la pression de la lamelle, mais ce même processus doit vraisemblablement se produire au moment de la piqûre de l'hôte par l'insecte : nous ne pouvons autrement expliquer que par cette effraction la sortie de larves dont le diamètre est supérieur à celui des palpes et des différentes pièces buccales de l'hôte intermédiaire.

Les plus grandes de ces larves atteignent 583 μ avec un diamètre maximum de 33 μ (fig. 3 F) ; leur tube digestif, pourvu d'un anus, et l'anneau nerveux sont bien apparents ; les ornementations cuticulaires sont représentées par une fine striation transversale, deux dents antérieures, l'une dorsale, l'autre ventrale (fig. 2 G) et deux mamelons caudaux latéraux (fig. 2 H).

Les formes les moins évoluées, encore au stade dit « en saucisse » mesurent 325 × 35 μ ; l'ornementation cuticulaire de ces formes peu mobiles est très peu différenciée (fig. 4 A).

Comme l'on peut s'en rendre compte, il existe entre ces larves de provenance spontanée et les larves obtenues par repas infectieux contrôlés, des différences très marquées : aucun terme de transition n'a pu être mis en évidence. Avec toute la réserve que comporte l'interprétation de telles constatations, dues pour une grande part au trop petit nombre de dissections, nous rappellerons qu'au cours d'un été nuageux comme celui de 1940 (Richelieu) à des périodes d'infestations plus ou

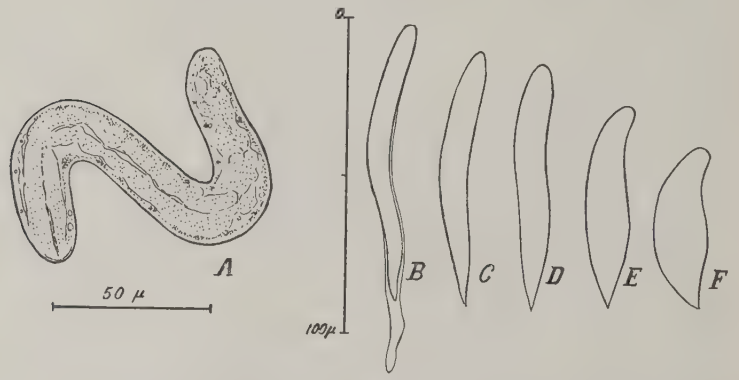


Fig. 4. — A, larve au stade dit « en saucisse », trouvée dans le corps de *Forcipomyia velox* spontanément infestée ; B-F, figures schématiques représentant une microfilaire (B) d'*Icosiella neglecta* et les modifications qu'elle subit dans le corps de *Forcipomyia velox* 32 heures (C), 42 heures (D), 72 heures (E) et 80 heures (F) après son ingestion (expérimentale).

moins générales peuvent parfaitement succéder des périodes négatives : nous avons en effet déjà signalé l'action exercée par les conditions atmosphériques sur la biologie de *Forcipomyia*. L'absence de larves à certains stades peut également être liée dans une certaine mesure à un caractère de périodicité saisonnière des filaires chez les grenouilles, périodicité déjà notée dans le Catalogue des Entozoaires de Vienne, puis par de Nabias et Sabrazès (*in* R. Blanchard, 1895), également remarquée depuis trois années pour les microfilaires par nous-mêmes.

3. Pourcentage et taux d'infestation spontanée de *Forcipomyia* par des larves de Nématodes. — A la dissection d'un lot de 130 *Forcipomyia*, capturées sur des grenouilles vertes infestées ainsi que nous l'avons indiqué et disséquées dans les premières heures suivant le repas, 17 fois, nous avons rencontré des larves : 10 de ces cas étaient représentés par les jeunes formes d'*Icosiella* ingérées au

moment de la capture, les 7 autres par les larves de nématodes infectieuses, soit seules, soit en association avec les précédentes. Ainsi, consécutivement aux infestations spontanées, contractées au cours de repas vraisemblablement complets, 5,3 o/o des *Forcipomyia* hébergent des formes évoluées ; une même femelle renferme tantôt une seule de ces larves (3 cas), tantôt deux (2 cas), trois (1 cas) ou quatre (1 cas).

Le pourcentage d'infestation spontanée est peut-être plus élevé : il faut en effet tenir compte de la pénétration possible de larves — si elles sont bien celles d'*Icosiella* — chez les grenouilles pendant le laps de temps qui précède la capture (cette pénétration chez des animaux déjà parasités doit être possible : des surinfections expérimentales au moyen d'adultes ont été réalisées par F. Coutelen (1928) ; en outre, le nombre de filaires est toujours plus élevé chez les grosses grenouilles).

4. Tentative de pénètration chez les grenouilles des larves infectieuses. — L'identité morphologique entre les larves infectieuses spontanées et les microfilaires d'*Icosiella* ingérées n'ayant pu être établie par suite du manque de matériel, nous avons essayé de faire évoluer ces larves vers une forme reconnaissable.

Le seul spécimen qui nous restait alors était une larve considérée comme parfaitement infectieuse et bien mobile ; prélevée dans une goutte d'eau physiologique, elle fut placée sur la queue transparente d'une jeune grenouille verte. Mue par un tropisme évident, la larve, devenue alors très active, frappa inlassablement de la tête les téguments lisses de l'hôte présenté pendant 20 minutes, cherchant soit l'interstice favorable à une pénétration, soit un point d'appui permettant une perforation active. Ces conditions, fournies par l'hôte intermédiaire, n'étant pas réalisées expérimentalement, nous avons voulu mécaniquement les produire : c'est au cours de cette dernière manipulation que la larve fut perdue.

5. Superposition entre la répartition géographique de *Forcipomyia* et d'*Icosiella*. — Les seules constatations que nous ayons pu faire à ce sujet et qu'il aurait été intéressant d'amplifier, sont les suivantes :

A. — Basses-Pyrénées (Morlanne, juillet 1940).
Forcipomyia velox est très abondant ;

11 grenouilles sur 19 renferment des filaires ;
4 grenouilles sur 6 renferment des filaires ;
4 grenouilles sur 4 renferment des filaires.

B. — Charente-Inférieure (environs de Fouras, août 1940). *Forcipomyia velox* n'a pas été rencontré;

8 grenouilles sur 8 sont négatives.

Fig. 5. — *Forcipomyia velox* venues spontanément piquer une grenouille verte fixée (Photographie communiquée par R. Laurent).

C. — Indre-et-Loire (Richelieu et environs, septembre 1940). *Forcipomyia velox* est abondant;

33 o/o des grenouilles renferment des filaires.

Conclusions. — *Avec toutes les réserves qu'il convient de faire en présence de telles constatations*, nous considérons actuellement *For-*

cipomyia velox Winn. 1852 comme étant le vecteur normal d'*Icosiella neglecta* (Diesing 1851), filaire commune du tissu sous-cutané et conjonctif intramusculaire de *Rana esculenta* L., parce que :

Fig. 6. — Figure schématique indiquant la position des *Forcipomyia* sur la tête de la grenouille photographiée.

1° *Forcipomyia velox* ne semble se nourrir que sur les batraciens;

2° *Forcipomyia velox* ne s'éloigne pas du voisinage des mares (ces deux points ont été établis antérieurement, cf. C. Desportes et H. Harant 1939);

3° Le seul batracien susceptible d'être piqué dans ces conditions, par *Forcipomyia velox* est *Rana esculenta*;

4° Les autres diptères hématophages, suçant le sang des grenouilles sont beaucoup plus rares que *Forcipomyia velox* et malgré différentes tentatives, nous n'avons jamais obtenu, jusqu'à présent, qu'une petite mouche (*Atrichops* sp.), chez qui l'évolution ne peut se faire, les microfilaires ingérées succombant le cinquième jour;

5° Les microfilaires d'*Icosiella neglecta*, ingérées par *Forcipomyia velox*, au lieu de succomber, commencent rapidement leur évolution;

6° Spontanément, plus de 5 o/o de femelles de *Forcipomyia velox* hébergent des larves de nématodes sur lesquelles *Rana esculenta* exerce un tropisme positif évident;

7° *Rana temporaria*, que le mode d'existence n'expose en aucune saison aux piqûres de *Forcipomyia velox*, n'héberge jamais spontanément, à notre connaissance (1), *Icosiella neglecta*, alors que la même grenouille peut servir d'hôte expérimental à cette filaire (Coutelen 1928 et communication verbale).

Néanmoins une certitude sur le rôle joué par ce Chironomide dans la transmission de la filaire de la grenouille ne peut être acquise que par la réalisation du cycle expérimental complet, c'est donc dans ce sens que nous nous réservons de donner une suite à ces premières recherches.

Résumé

Après avoir donné un aperçu sur l'historique d'*Icosiella neglecta* (Diesing) souvent confondue avec *Filaria rubella* Rud., nous apportons quelques précisions sur la morphologie de cette filaire, et plus spécialement sur les caractères de l'armature génitale du mâle : celle-ci comporte les particularités suivantes :

1° Le spicule droit est généralement le plus long, contrairement à ce qui s'observe chez la plupart des nématodes à spicules inégaux.

2° Dans un cas sur sept examinés, le spicule gauche est le plus long.

3° L'inversion dans la disposition des spicules est accompagnée d'une inversion dans la forme asymétrique du petit spicule.

4° Le grand spicule, en s'évaginant, s'engage dans la gouttière du petit spicule qui, le retenant par deux petits becs, semble lui servir de guide en l'absence de gorgeret.

Des recherches sur l'évolution d'*Icosiella neglecta* nous amènent à considérer — avec toutes les réserves qu'il convient de faire en présence de telles recherches — qu'elle admet pour vecteur normal *Forcipomyia velox* Winn. 1852, Chironomide Cératopogoniné dont les femelles hématophages semblent ne piquer exclusivement que les batraciens situés au bord des mares et sucent normalement le sang de *Rana esculenta* L. : les microfilaires ingérées par ces moucherons demeurent parfaitement vivantes et commencent rapidement leur évo-

(1) De Nabias et Sabrazès signalent cependant l'existence de filaires chez les « quelques grenouilles rousses (*Rana temporaria*) qui avaient été *prises dans le même étang* que les précédentes (*Rana esculenta*) ».

lution, tendant vers la forme dite « en saucisse ». Les formes évoluées ne peuvent être obtenues par suite de la mort vers le cinquième jour des moucherons en captivité, mais 5,3 o/o des femelles, capturées dans la nature, hébergent des larves infectieuses de nématodes, au nombre de 1 à 4 par hôte : une de ces larves, placée sur la queue d'une jeune *Rana esculenta* cherche visiblement à pénétrer chez l'hôte présenté, malgré les conditions peu favorables dans lesquelles elle se trouve. Enfin une certaine corrélation semble exister entre la répartition géographique du parasite et celle de ce moucheron.

Bibliographie

Blacklock (D. B.). — The development of *Onchocerca volvulus* Leuckart in *Simulium damnosum*. *Ann. Trop. Med. and Parasit.*, XX, 1926, p. 1.

Blanchard (R.). — *Les Vers du Sang. Les Hématozoaires de l'Homme et des Animaux*, Paris, 1895, p. 181.

Brumpt (E.). — *Précis de Parasitologie*, Paris, Masson, 5e éd., 1936, t. I, p. 965.

Catalogue des Entozoaires du Musée de Vienne, 1811, *in* : Westrumb (A. H. L.). — *De Helminthibus acanthocephalis*, 1821, p. 78.

Causey (O. R.). — Aëdes and Culex mosquitoes as intermediate hosts of frog filaria, *Foleyella* sp. *Amer. Journ. Hyg.*, XXIX-C, 1939, p. 79.

— Development of the larval stages of *Foleyella brachyoptera* in mosquitoes. *Amer. Journ. Hyg.*, XXX-D, 1939, p. 69.

Chitwood (B. G.) et Chitwood (M. B.). — *An Introduction to Nematology*, I, 2, 1938, p. 120.

Coutelen (F.). — Contribution à l'étude de la filariose des grenouilles. Infection et surinfection expérimentales. *Ann. de Parasit.*, VI, 1928, p. 196.

De Nabias et Sabrazès. — La filaire du sang des grenouilles. Découverte du mâle. *Assoc. franç. pour l'Avancement des Sciences*, Congrès de Pau, 1892, p. 1.

Desportes (C.) et Harant (H.). — Observations sur la biologie d'un Ceratopogoniné hématophage, *Forcipomyia velox* Winn. 1852, piqueur de la grenouille verte. *Ann. de Parasit.*, XVII, 1939-1940, p. 369.

Diesing (K. M.). — *Systema Helminthum*, Vienne, 1851, t. II, pp. 269, 276, 284.

Dujardin (F.). — *Histoire naturelle des Helminthes*, 1845, p. 59.

Linstow (O. von). — *Parasitische Nematoden. Die Süszwasserfauna Deutschlands*, XV, 1909, p. 74.

Mathis (C.) et Léger (M.). — *Recherches de Parasitologie et de Pathologie humaines et animales au Tonkin*, Paris, Masson, 1911, pp. 406, 450.

Porta (A.). — Ricerche sul ciclo exolutiva della *Filaria rubella* Rud. *Zool. Anzeig.*, XXXIX, 1912, p. 202.

Railliet (A.). — Sur les Filaires de Batraciens. *Bull. Soc. Path. Exot.*, IX, 1916, p. 137.

Rudolphi (C. A.). — *Entozoorum Synopsis*, 1819, pp. 5, 10, 212.

Seurat (L. G.). — Sur deux Filaires des reptiles du Nord-Africain. *C. R. Soc. Biol.*, LXXIX, 1916, p. 1131.

— Filaires des Reptiles et des Batraciens. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, VIII, 1917, p. 21.

Skrjabin (K. I.) et Schikhobalova (N. P.). — Contribution au remaniement de la classification des nématodes de l'ordre des *Filariata* Skrjabin 1915. *Ann. de Parasit.*, XIV, 1936, p. 61.

Valentin (G.). — Erzeugung der Eingeweidewürmer. *Repertorium für Anatomie und Physiologie*, VII, 1841, p. 51.

Vogt (C.). — Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Filarien. *Archiv f. Anat. Physiol. u. Wiss. Med.*, J. Müller, 1842, p. 189.

Vulpian (E. F.). — Note sur les hématozoaires filiformes de la grenouille commune. *C. R. Soc. Biol.*, 1854, p. 123.

Walton (A. C.). — The Nematoda as Parasites of Amphibia. *Journ. Parasit.*, XXI, 1935, p. 27.

— A Revision of the Nematodes of the Leidy Collections. *Acad. Nat. Sci. Phila.*, LXXIX, 1927, p. 111.

Wehr (E. E.). — A revised classification of the nematode superfamily *Filarioidea*. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, II, 1935, p. 84.

Yorke (W.) et Maplestone (P. A.). — *The nematode Parasites of Vertebrates*, Londres, 1926, pp. 395, 411, 424.

Institut de Parasitologie de la Faculté de médecine de Paris et Station expérimentale de Richelieu (Indre-et-Loire) (Directeur : Professeur E. Brumpt).

Mission E. BRUMPT et L. Ch. BRUMPT en Colombie et au Venezuela.

MORPHOLOGIE DE LA FEMELLE DE *PHLEBOTOMUS PANAMENSIS* SHANNON 1926

Par A. RISTORCELLI et DAO VAN TY

L'exemplaire a été récolté par le Docteur David Iriarte à San Juan de los Moros (Venezuela). Le Professeur E. Brumpt a rapporté ce phlébotome de sa mission en Amérique du Sud en 1939 et nous l'a confié en vue de sa détermination ; nous l'en remercions bien sincèrement.

L'exemplaire a été classé dans la collection de l'Institut de Parasitologie sous le numéro 751-XXVII.

Description de l'exemplaire de San Juan.

Taille. — 2.923 μ. Exemplaire traité par la potasse et éclairci au chloral-lactophénol.

Tête et clypeus	396 μ
Thorax.	583 μ
Abdomen (segments génitaux compris) . . .	1.944 μ
Longueur totale.	2.923 μ

Coloration. — A noter une légère pigmentation au niveau du scutum. Ce caractère de coloration se retrouve chez de nombreux phlébotomes du Nouveau Monde. Il n'existe pas d'écailles blanches sur l'abdomen. Parmi le groupe de phlébotomes américains à articles palpaires courts, il serait seul avec *P. amazonensis* à présenter ce caractère (Root).

Antennes. — III > IV + V. III < IV + V + VI.

La longueur du troisième article est de 237 μ. Les épines géniculées sont bigéminées. Nous n'avons pu les suivre que jusqu'au 13e article ; les derniers articles étant absents. Ces épines géniculées sont très longues et atteignent même les articulations du segment suivant (Pl. III, fig. 2).

Palpes. — Formule palpale : 1, 4, 5, 2, 3. Rapport moyen des articles du premier au cinquième dans l'ordre :

$$1 — 4 — 4{,}7 — 1{,}4 — 2{,}7.$$

Le rapport moyen de l'exemplaire décrit par Root est de :

$$1 — 3{,}5 — 4{,}6 — 1{,}2 — 2{,}1.$$

Shannon dans la description de l'espèce donne comme rapport : 1 — 0,90 — 0,15 — 0,25, mais il considère les deux premiers segments réunis.

Longueur des articles.

I.	36 µ
II.	144 µ
III.	169 µ
IV.	50 µ
V.	97 µ

Sur notre exemplaire, les épines modifiées de Newstead, peu nombreuses, se trouvent dans le troisième quart du troisième article.

Il existe tout un groupe de phlébotomes sud-américains à segments palpaires terminaux courts : *P. squamiventris* Lutz et Neiva, *P. panamensis* Shannon, *P. davisi* Root, *P. amazonensis* Root, *P. intermedius* Lutz et Neiva, *P. rostrans* Summers. Root qui a bien étudié ce groupe a montré que les caractères qui permettaient leur différenciation étaient tirés des rapports palpaires, des armatures buccales et du nombre des anneaux des spermathèques. Les spermathèques de *P. rostrans* ne semblent pas encore avoir été décrites et cette espèce serait susceptible de tomber en synonymie avec une autre espèce du groupe (Root).

Epipharynx. — Longueur de 324 µ. Le rapport $\frac{\text{A III}}{\text{E}} = 0{,}73$.

Cavité buccale. — De même que chez *P. intermedius* la cavité buccale contient sur sa paroi inférieure une zone pigmentée triangulaire. La cavité buccale est armée d'une double rangée de larges dents ventrales. Trois espèces de phlébotomes sud-américains présentent ce type d'armature buccale (Root) : *P. panamensis*, *P. squamiventris* et *P. davisi* ; mais le premier seul possède une tache pigmentée très nette.

En plus des « short spines » et des « long spines » décrites par Hertig chez des phlébotomes du groupe *verrucarum*, nous trouvons ici des denticulations arrondies disposées au niveau de la zone pigmentée et dirigées perpendiculairement au tube digestif ; elles dessinent un V dont la concavité est dirigée vers l'avant et sont groupées en cocarde à sa base (fig. 1 B).

Les « short spines » de Hertig sont disposées sur une sorte de bande qui croise la tache pigmentée, pointant vers le pharynx quatre dents longues et minces (« long spines ») dirigées presque horizontalement (fig. 1 B et pl. III, fig. 3).

Pièces buccales. — La maxille (fig. 1 C) porte une denticulation apicale externe double, analogue à celle de *P. intermedius* (Nitzulescu). La mandibule est peu caractéristique ; de même le labre-épipharynx. Il serait intéressant de vérifier si les autres espèces du groupe à segments palpaires terminaux courts présentent également ce caractère.

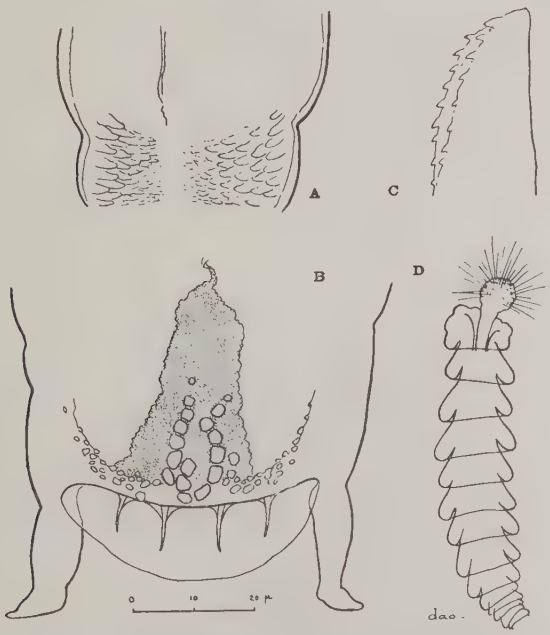


FIG. 1. — *Phlebotomus panamensis*. A, armature pharyngienne ; B, cavité buccale ; C, maxille ; D, spermathèque. Tous les dessins sont faits à la même échelle.

Pharynx. — Longueur 180 µ ; largeur 50 µ. L'armature pharyngienne est presque semblable à celle de *P. intermedius* et *P. major* : lacis de séries linéaires de denticulations punctiformes (fig. A).

Aile. — Longueur 2.052 µ ; largeur 615 µ (Pl. I, fig. 1).

Le rapport $\frac{\text{taille de l'insecte}}{\text{longueur de l'aile}} = 1{,}42$. L'aile est trois fois plus longue que large.

$$\frac{\text{longueur de l'aile}}{\text{largeur de l'aile}} = 3{,}33.$$

Les principales dimensions des nervures sont :

$$\alpha = 507\ \mu$$
$$\beta = 270\ \mu$$
$$\delta = 108\ \mu$$

Le rapport alaire $\frac{\alpha}{\beta}$ est de 1,8. Ce rapport paraît être très variable : de 1,7 à 2,3 d'après Root (Pl. III, fig. 1).

Pattes. — Les dimensions des tibias, des fémurs ainsi que le rapport $\frac{\text{tibia}}{\text{fémur}}$ sont pour chaque paire :

1re paire : tibia = 1.177 μ ; fémur = 831 μ ; rapport = 1,4.
2e paire : tibia = 1.371 μ ; fémur = 734 μ ; rapport = 1,8.
3e paire : tibia = 1.512 μ ; fémur = 853 μ ; rapport = 1,7.

Spermathèques. — Les spermathèques sont semblables dans leur forme générale à celles des phlébotomes américains à articles terminaux palpaires courts (*P. intermedius* possédant des spermathèques d'un type voisin). Le nombre de leurs anneaux est de 10-11, les derniers étant peu développés. Le nombre des anneaux n'est pas un caractère absolument fixe ; Root en a compté 13 dans l'exemplaire qu'il a examiné. Les canaux individuels des spermathèques sont plus courts que les spermathèques elles-mêmes. Les anneaux de la spermathèque portent des sortes de cannelures bien visibles également sur la microphotographie de *P. squamiventris*, dans le travail de Costa Lima. Le col de la spermathèque s'implante à la base du premier anneau dans une dépression infundibuliforme (fig. 1 D et Pl. III, fig. 4).

Résumé

Nous décrivons une femelle de *P. panamensis* originaire du Venezuela, en complétant les caractères déjà connus par la description des maxilles et des pattes.

EXPLICATION DE LA PLANCHE III

Phlebotomus panamensis (exemplaire de San Juan de Los Moros).

Fig. 1. — Aile.
Fig. 2. — Épines géniculées de l'antenne.
Fig. 3. — Cavité buccale.
Fig. 4. — Spermathèques.

1
2
3
4

Bibliographie

Costa Lima (A. da). — Sobre os phlébotomos americanos. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, XXVI, 1932, p. 15.

Coutinho (J. O.). — Nota sobre flebotomos sud-americanos. *Bol. biologico*, IV, 1939, p. 181.

Dyar (H. G.). — Present knowledge of the American species of *Phlebotomus* Rondani. *Amer. Jour. Hyg.*, X, 1929, p. 113.

Dyar (H. G.) et Nuñez Tovar (M.). — Notes on biting-flies from Venezuela. *Insecutor. Ins. Mens.*, XIV, 1926, p. 152.

França (C.). — Observations sur le genre *Phlebotomus*. II. Phlébotomes du Nouveau Monde. *Bull. Soc. Portug. Sc. Nat.*, VIII, 1920, p. 225.

Lutz (A.) et Neiva (A.). — Contribuiçao para o conhecimento das especies do genero *Phlebotomus* existentes no Brazil. *Mem. Ins. Osw. Cruz*, IV, 1912, p. 84.

Root (F. M.). — Some american species of *Phlebotomus* with short terminal palpal segments. *Amer. Jour. Hyg.*, XX, 1934, p. 233.

Shannon (R. C.). — The occurence of *Phlebotomus* in Panama. *Jour. Wash. Acad. Sc.*, XVI, 1926, p. 190.

Theodor (O.). — On the structure of the buccal cavity, pharynx, and spermatheca in South American *Phlebotomus*. *Bull. Ent. Res.*, XXIII, 1932, p. 17.

Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris
(Directeur : Professeur Émile Brumpt).

III. — PHLÉBOTOMES D'UNE RÉGION DE COLOMBIE OÙ LA VERRUGA DU PÉROU EST DEVENUE ENDÉMIQUE DEPUIS TROIS OU QUATRE ANS

Par A. RISTORCELLI et DAO VAN TY

L'étude complète de ces phlébotomes, actuellement sous presse en zone libre, paraîtra dans ces *Annales* ultérieurement.

Parmi les espèces trouvées :

P. longipalpis Lutz et Neiva 1912	♀
P. evansi Nuñez Tovar 1924.	♀ et ♂
P. osornoi n. sp.	♀
P. colombianus n. sp.	♀
P. monticolus C. Lima 1932 var. *incarum* n. var.	♀

nous rappelons brièvement ici les caractères des espèces et variétés nouvelles, laissant de côté la plupart des mensurations, rapports, formules, etc...

P. osornoi n. sp. ♀.

Taille. — 3.726 μ.

Antennes. — III > IV + V. III < IV + V + VI.

Palpes. — Les deux derniers articles manquent.

Epipharynx. — 486 μ de long. $\frac{A\ III}{E} = 1$.

Cavité buccale. — Les 4 « long spines » de Hertig sont implantées séparément.

Pharynx. — 244 μ de long sur 90 μ de largeur maxima. L'armature est composée de fines denticulations rappelant beaucoup certains phlébotomes européens.

Ailes. — Grande dimension : 3 mm. 67 de long sur 1 mm. 10 de large.

Pattes. — Les rapports de Raynal sont : 1,3 — 1,6 — 1,8.

Spermathèques. — Les spermathèques sont du type crénelé et bien différentes de celles des espèces décrites. Longueur : 22 μ.

P. colombianus n. sp. ♂♀.

Taille. — De 2.526 μ à 2.915 μ.

Antennes. — III > IV + V. III < IV + V + VI.

Palpes. — 1, 4, 2, 3, 5.

Epipharynx. — De 298 à 320 μ. $\frac{A\ III}{E}$ varie de 0,90 à 0,91.

Cavité buccale. — Du type *verrucarum*, mais diffère par : 2 rangées irrégulières de « short spines » ; plage pigmentée peu visible.

Pharynx. — Est formé de plis intriqués de denticulations punctiformes (sorte de feutrage d'éléments linéaires).

Aile. — 2 mm. 192 sur 0 mm. 702.

Pattes. — Les rapports de Raynal sont : 1,1 — 1,3 — 1,5.

Spermathèques. — De type spécial. Hyalines, lisses, piriformes, débouchant dans une ampoule unique. Portent une tête bien visible, fixée à un col court. Longueur : 60 μ en moyenne sur 23 μ de largeur.

P. monticolus da Costa Lima 1932, var. incarum n. var.

Taille. — Varie de 2.062 à 2.754 μ.

Antennes. — III > IV + V. III < IV + V + VI.

Palpes. — 1, 4, 2, 3, 5.

Epipharynx. — Longueur moyenne : 340 μ. $\frac{A\ III}{E} = 0,9$.

Cavité buccale. — Du type *verrucarum*. Pas de plage pigmentée visible. Une rangée de « short spines » non rectiligne.

Pharynx. — Longueur de 165 μ à 190 μ. Largeur de 54 μ à 72 μ. L'armature pharyngienne, peu développée, est constituée par un feutrage de courtes séries linéaires de denticulations punctiformes difficilement visibles.

Aile. — 2 mm. 36 de long sur 0 mm. 75 de large.

Pattes. — Les rapports de Raynal sont : 1,1 — 1,3 — 1,5.

Spermathèques. — Elles sont différentes suivant qu'elles sont distendues ou contractées. Distendues, elles sont piriformes et surmontées d'une tête en fraise. Les deux spermathèques débouchent dans une ampoule unique. Dimensions : 45 μ sur 30 μ.

Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris
(Directeur : Professeur Émile Brumpt).

MÉCANISME D'ÉCLOSION DES MOUSTIQUES

Par E. BRUMPT

HISTORIQUE. — Les nymphes de culicidés doivent la légèreté qui leur permet de se tenir sans effort à la surface de l'eau où elles peuvent respirer, ou encore entre deux eaux, à une grosse bulle d'air qu'elles présentent sur leur thorax, entre les étuis alaires. Le savant danois Meinert (1886) est, à notre connaissance, le premier entomologiste qui ait signalé la présence de cette bulle d'air chez les nymphes de culicidés. Il observe son existence chez les *Culex* et voici ce qu'il écrit en décrivant la nymphose de *Chaoborus crystallinus* (= *Corethra plumicornis* auct.) :

« Les trachées et les sacs à air de la larve avec l'air qu'ils contiennent se détachent également, de sorte que la nymphe est d'abord vide d'air. L'air expulsé ne s'échappe pas, mais, sauf la petite quantité qui reste dans les sacs à air et les trachées, se rassemble en une grosse bulle qu'entourent le dessous du thorax et les étuis des ailes, et fonctionne comme un flotteur qui supporte la nymphe et lui permet de rester dans l'eau. »

Cet auteur observe, d'autre part, la présence d'air entre la peau de la nymphe et l'insecte parfait qu'elle renferme et qui se prépare à éclore chez *Chaoborus crystallinus*, *Mochlonyx culiciformis*, *Chironomus venustus*, ainsi que chez le moustique *Aëdes nemorosus*.

De savants observateurs comme Réaumur (1740), de Geer (1776), qui avaient si bien décrit les métamorphoses de ces insectes nématocères, n'avaient pas signalé ces faits qui présentent une importance capitale en ce qui concerne le mécanisme d'éclosion de l'insecte parfait.

Après Meigen, Hurst (1890) a observé la bulle d'air des *Culex* et il admet que cet air est en communication avec les trachées de la nymphe par l'intermédiaire d'un stigmate qui existerait sur le premier segment abdominal. Or, les seuls orifices respiratoires de la nymphe étant placés à l'extrémité des trompettes, l'origine donnée par Hurst à l'air qui assure l'équilibre de la nymphe est certainement erronée.

Dans la belle monographie qu'ils ont consacrée à l'*Anopheles macu-*

Annales de Parasitologie, t. XVIII, nos 1-2-3. — 1941, p. 75-94.

lipennis, Nuttall et Shipley (1901) ne mentionnent pas la bulle d'air externe mais décrivent exactement les points où l'air se rencontre sous la peau de la nymphe peu avant l'éclosion, sans émettre d'ailleurs aucune hypothèse sur son origine. Ils ne parlent pas de l'air ingéré par ce moustique pour faciliter son éclosion ainsi que nous le signalons ci-dessous.

C'est à Eysell (1905) que nous devons les documents les plus intéressants sur le mécanisme d'éclosion d'un culiciné dont cet auteur ne donne pas le nom spécifique. Après avoir décrit l'éclosion classique,

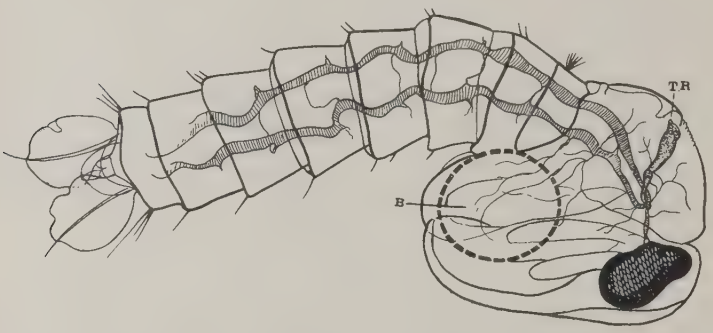


Fig. 1. — Nymphe de *Stegomyia fasciata* venant d'éclore et montrant l'appareil trachéen, beaucoup plus réduit que chez la larve adulte (fig. 2), aboutissant aux trompettes; la bulle d'air hydrostatique B, formée aux dépens de l'air trachéen larvaire, occupe sa position normale entre les étuis alaires.

bien connue depuis les travaux de Réaumur et observé comme ses prédécesseurs l'apparition d'une couche d'air, peu de temps avant l'éclosion, entre la peau nymphale et l'insecte adulte qu'elle renferme, il constate un phénomène ignoré de tous avant lui, dans le cas des culicidés tout au moins, à savoir l'ingestion d'air par l'insecte. Cet air, qui ballonne le corps, facilite l'issue de l'insecte parfait hors de la pupe.

Nous avons néanmoins relevé dans le travail d'Eysell quelques points que nous considérons comme inexacts. En premier lieu, Eysell admet que l'air présent sous la cuticule de la nymphe a été évacué des trachées par les stigmates de l'adulte et que c'est lui qui donnerait à la pupe un aspect argenté. Cet air produirait une pression suffisante pour fendre la mue sur la face dorsale, au point de moindre résistance, et romprait en même temps les connections entre l'appareil trachéen de

l'imago et les trompettes nymphales. Or, nous verrons plus loin que, selon nos observations confirmant celles de Mac Gregor, l'air sous-cuticulaire qui est injecté en quelques minutes, arrive au moment où la peau nymphale avec les trompettes se sépare du thorax du moustique, ce qui permet à l'air extérieur de pénétrer et de faciliter le décollement de l'insecte parfait de la mue qui l'enveloppe (1).

Un second point sur lequel nous ne sommes pas d'accord avec Eysell concerne le lieu d'accumulation de l'air ingéré; Eysell le situe dans les diverticules œsophagiens, ce qui est contestable, au moment de l'éclo-

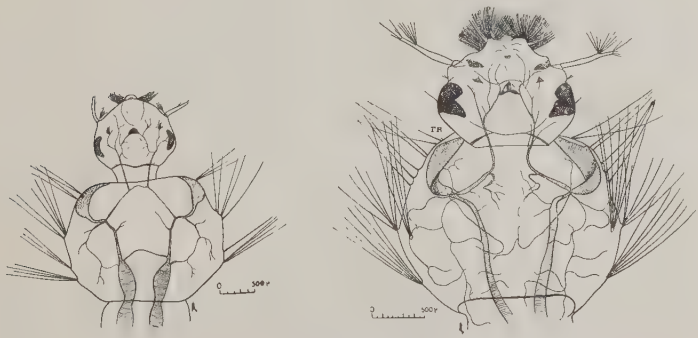


FIG. 2. — A gauche, extrémité antérieure ventrale d'une larve de *Stegomyia fasciata* sur le point de nymphoser; à droite, larve de *Culex pipiens* au même stade, vues par la face ventrale. TR, trompettes nymphales sous-cuticulaires.

sion tout au moins, puisque d'après Marshall et Staley d'une part, et nos observations de l'autre, l'air se localise exclusivement dans l'estomac.

Dans un second travail publié en 1911, Eysell n'apporte aucun élément nouveau à son premier et très important mémoire.

Brocher (1913), qui a suivi avec soin les métamorphoses de divers insectes aquatiques, note la présence d'air sur la cuticule nymphale des *Culex*, au moment de l'éclosion de l'adulte.

Dans un travail sur la biologie et en particulier sur la ponte du moustique *Stegomyia albopicta*, S. K. Sen (1924) signale simplement

(1) Chez certains insectes, il se produit entre la mue nymphale et l'insecte qui va éclore, un liquide particulier dont l'absorption ultérieure provoquerait l'accumulation d'air sous la peau nymphale. Nous estimons que ce n'est pas le cas chez les moustiques, car, d'une part, l'arrivée de l'air sous-cuticulaire se fait avec une très grande rapidité, et, d'autre part, l'insecte parfait sort absolument sec de sa mue.

la présence de nombreuses bulles d'air dans les diverticules, et parfois dans le tube digestif de moustiques disséqués aussitôt leur éclosion ou après les repas.

En 1927, dans son livre sur les enquêtes antipaludiques, Mac Gregor donne (p. 68) une bonne description de la nymphe au moment où le moustique va éclore. Il signale qu'après avoir pris une position horizontale, la nymphe montre, sous la cuticule du thorax, des taches et des lignes argentées dues à la présence d'air interposé entre l'insecte parfait et les téguments de la nymphe. Cet air, venu de l'extérieur, serait introduit par les trompettes respiratoires et passerait ensuite par les stigmates thoraciques et abdominaux dans le corps du moustique. D'après l'auteur, ce serait la pression produite par l'air sous-cuticulaire de la pupe et les contractions musculaires du moustique qui détermineraient la rupture longitudinale thoracique et l'éclosion de l'insecte.

En 1932, Marshall et Staley constatent comme Eysell que le moustique adulte remplit son corps d'air au moment de l'éclosion, mais, après de nombreuses dissections, ils concluent que cet air s'accumule dans l'estomac; c'est donc l'air distendant cet organe qui permet au moustique d'éclore, ce que nos observations nous autorisent à confirmer.

Toutefois, nous ne partageons pas l'opinion de Marshall et Staley, ni de Marshall (1938), en ce qui concerne l'origine de l'air sous-cuticulaire, ces auteurs signalent que la présence de cet air a été mentionnée pour la première fois par Hurst en 1890, puis par Nuttall et Shipley en 1901. Mais Hurst ne parle pas d'air sous-cuticulaire; il observe simplement, comme nous l'avons déjà dit, après Meinert (1886), une grosse bulle d'air située entre les étuis des ailes de la nymphe et qu'il présume évacuée par un stigmate placé sur le premier anneau de l'abdomen de la nymphe; cet air aurait un rôle important pour l'équilibre de l'animal dans l'eau. La description de Hurst permet d'affirmer par conséquent que cette *bulle est extérieure*. Donc, il ne s'agit point d'air sous-cuticulaire.

Dans leur description de l'éclosion d'un moustique, Marshall et Staley admettent que c'est cette bulle d'air qui fournit la couche sous-cuticulaire, ce qui est matériellement impossible puisqu'il n'y a jamais de communication entre la nymphe et la bulle d'air qu'elle tient entre ses étuis alaires.

P. Sen (1935) qui a étudié l'éclosion de milliers de nymphes de sept espèces d'*Anopheles* du Bengale ne semble pas s'être intéressé au mécanisme qui permet à l'insecte parfait de se libérer de sa dépouille nymphale.

RECHERCHES PERSONNELLES

Matériel. — Pendant l'été de l'année 1940, à la Station de Parasitologie expérimentale de Richelieu, nous avons eu l'occasion d'assister à l'éclosion, ainsi qu'à la ponte de divers diptères nématocères, de culicidés en particulier. Ces derniers appartenaient aux espèces suivantes : *Anopheles maculipennis*, *A. bifurcatus*, *Culex pipiens*, *Culex hortensis*, *Stegomyia fasciata* et *S. albopicta*, *Theobaldia annulata* et *T. longiareolata*. Ces divers moustiques provenaient d'élevages que nous entretenons à notre laboratoire de la Faculté de Médecine de Paris, avec la collaboration de notre assistant M. Dao Van Ty, ou de larves et de nymphes capturées dans la nature (1).

Technique. — L'éclosion des moustiques adultes (*Anopheles maculipennis atroparvus*, *Theobaldia annulata*, *Culex pipiens*, *Stegomyia fasciata*, *S. albopicta*) semble un peu plus fréquente la nuit que le jour, mais cette fréquence est conditionnelle et dépend beaucoup plus de la température que de la lumière.

Si la température descend à 4 ou 5° C., l'éclosion ne se produit généralement plus ou est fortement ralentie, tandis qu'elle reprend dès que la température se relève. Nous avons utilisé cette observation pour mieux étudier le phénomène de l'éclosion pendant la journée : c'est ainsi que, parmi un lot de 100 nymphes mûres de *Theobaldia annulata* (Exp. 235/XXX), nous avons constaté que de rares éclosions se produisaient au frigidaire à 5° C. Or, dès que ces pupes étaient soumises à la température du laboratoire, les éclosions devenaient fréquentes quand la température atteignait 15° C, et ceci à peine une heure après la sortie de la glacière. Les mêmes faits ont été observés avec les nymphes des autres culicidés mises en diapause forcée.

Nous n'avons pas réussi à provoquer l'éclosion plus rapide de nymphes soumises à des chocs violents ; ce genre de traumatisme exerce une action très nette sur la ponte des Nématocères, comme Shute (1933) l'a démontré dans le cas des moustiques, fait que nous avons confirmé chez ces mêmes insectes. Ajoutons seulement que nous avons obtenu des résultats plus rapides encore et plus efficaces, en endormant à l'éther, pendant quelques minutes, divers culicidés (*Theobaldia annulata*, *C. pipiens*) et *Chaoborus crystallinus*.

(1) Nous adressons nos sincères remerciements à notre dessinatrice, M^lle^ A. Lapasset, pour le précieux matériel qu'elle a récolté à notre intention aux environs de Paris.

L'éclosion des moustiques était suivie, soit à la loupe de poche, soit, ce qui est infiniment préférable, à la loupe binoculaire. Les insectes étaient ensuite disséqués dans l'eau physiologique ou dans le lactophénol, après avoir été tués dans les vapeurs d'éther.

L'étude de la bulle d'air hydrostatique est très facile. Il suffit d'anesthésier la nymphe ou encore de l'immerger dans l'alcool, de la mettre ensuite sur le dos et de séparer sous l'eau ou l'alcool les étuis alaires pour apercevoir la bulle d'air, souvent divisée en plusieurs bulles secondaires au moment de la dissection, quitter les creux des ailes, les espaces placés entre les pattes et la trompe, et venir éclater à la surface.

Quand un stade d'éclosion semble intéressant et digne d'être conservé, il suffit de plonger l'insecte dans l'alcool fort ou dans la vapeur d'éther, puis, après une imprégnation sur lame avec du lactophénol dont l'usage si précieux en entomologie est dû à M. Langeron (1905), de monter définitivement l'animal dans la gomme au chloral.

Nymphose. — Ce phénomène dure peu de temps et, pour l'observer, il est indispensable d'avoir devant les yeux, dans un cristallisoir, un grand nombre de larves mûres présentant déjà sous leur cuticule la nymphe prête à éclore dont les deux trompettes peuvent se voir assez facilement à un faible grossissement microscopique (fig. 2 et 3). Quand la mue se produit, on constate que la larve qui était plus lourde que l'eau et ne pouvait se tenir à la surface que grâce à l'appareil hydrofuge terminant le siphon respiratoire, a donné naissance à une nymphe plus légère que l'eau. En disséquant immédiatement ces nymphes encore blanches, on observe entre les étuis des ailes et la face ventrale du thorax, la bulle d'air hydrostatique qui les rend légères. Cette bulle ne peut provenir que de l'air renfermé dans une partie des trachées de la larve.

Si, à l'aide d'une trompe à eau ou d'une machine à faire le vide, adaptées à un récipient contenant des nymphes de moustiques, on fait disparaître la bulle d'air hydrostatique, les nymphes devenues plus lourdes, ne peuvent, malgré tous leurs efforts, quand le vide a cessé, demeurer assez longtemps à la surface de l'eau pour y respirer, et elles finissent par rester au fond du récipient où elles meurent.

Eclosion. — Quand la nymphe est sur le point de donner naissance à l'adulte, ce qui se produit en un ou deux jours ou en plusieurs semaines suivant la température, elle se reconnaît facilement à sa couleur beaucoup plus foncée que celle des nymphes jeunes de la même espèce. Sa façon de fuir quand on l'irrite est un peu particulière car

elle quitte moins volontiers la surface de l'eau quand on agite le récipient où elle se trouve et dès qu'elle l'a quittée, elle revient rapidement reprendre son équilibre habituel.

Une observation attentive montre que certains points du thorax prennent un aspect argenté ou mordoré qui indique un début d'infil-

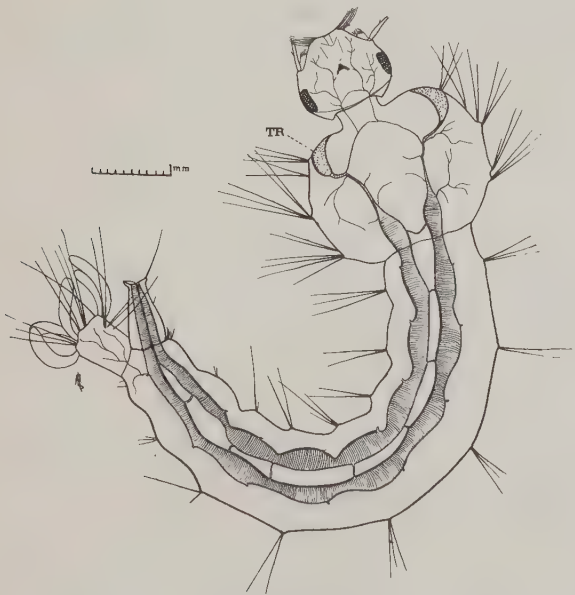


Fig. 3. — Larve adulte, vue par la face ventrale, de *Stegomyia fasciata*, sur le point de se transformer en nymphe. TR, trompettes nymphales sous-cuticulaires. L'appareil trachéen abdominal est beaucoup plus développé que celui de la nymphe (fig. 1). Au moment de la nymphose, l'excès d'air se loge entre les étuis alaires de la nymphe et constitue la bulle hydrostatique.

tration d'air entre la peau nymphale et l'insecte parfait qu'elle recouvre. C'est alors que l'animal étend son abdomen parallèlement à la surface de l'eau et que, assez brusquement, en quelques minutes, l'air apparaît non seulement dans tout le thorax, mais aussi dans les anneaux de l'abdomen.

Si l'on examine une nymphe à ce stade, on peut voir que l'insecte adulte, facile à reconnaître à ses écailles et aux organes génitaux, est tout à fait formé et séparé de la cuticule nymphale, souvent même les

deux derniers anneaux abdominaux du moustique ont déjà quitté l'extrémité du corps de la nymphe.

D'où vient cet air sous-cuticulaire alors que la peau de la nymphe est encore rigoureusement intacte? Pour Marshall et Staley, il émane de la bulle d'air hydrostatique que ces auteurs considèrent à tort comme interne, alors qu'elle est externe, ainsi que nous l'avons signalé dans les pages précédentes.

Notre opinion, conforme à celle de Mac Gregor (1927), est que l'air qui se glisse entre l'insecte parfait et la mue nymphale provient de

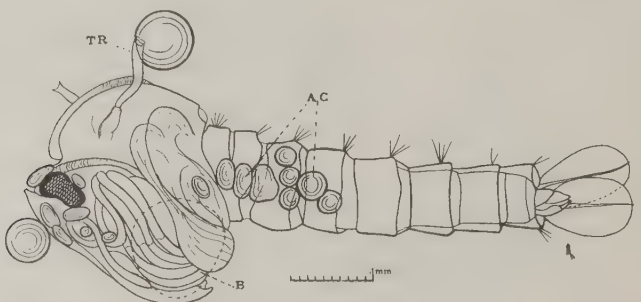


Fig. 4. — Nymphe de *Culex pipiens* sur le point d'éclore examinée dans le lactophénol. L'air sous-cuticulaire s'est rassemblé en plusieurs bulles (AC) et a été évacué en partie par la trompette gauche. La bulle hydrostatique interalaire est toujours en place; elle est indiquée par une ligne pointillée; sous la pression de la lamelle, elle a expulsé quelques bulles secondaires.

l'extérieur et qu'il pénètre par les deux trompettes respiratoires, au moment où celles-ci se détachent de l'insecte en laissant à leur place le stigmate thoracique antérieur. Ce qui nous fait admettre ce mécanisme, c'est que les premières taches d'air visibles sur la nymphe se trouvent précisément à la base de ces appareils respiratoires d'où l'air se répand ensuite dans tout le reste du corps. D'autre part, la communication entre les trompettes et la couche d'air sous-cuticulaire est facile à mettre en évidence en disposant entre lame et lamelle, dans de l'eau pure ou du lactophénol, une nymphe sur le point d'éclore, puis, en appuyant légèrement sur la lamelle. Dans les deux cas, on peut voir sortir par l'orifice des trompettes une bulle d'air plus ou moins volumineuse (fig. 4) provenant de la couche gazeuse sous-cuticulaire thoracique qui disparaît totalement quand le corps de l'animal est tout à fait éclairci par le chloral-lactophénol. On ne peut pas attribuer ce gaz à l'action de ce dernier réactif, car il ne se produit

rien quand on traite de la même façon des nymphes jeunes chez lesquelles existe seule la bulle d'air thoracique hydrostatique, toujours externe.

Si l'air sous-cuticulaire se produisait très lentement, on pourrait admettre qu'il provient, comme dans le cas des nymphes de *Chironomus* et de certaines larves acéphales de brachycères aquatiques (*Melanochaetia*, *Hydrellia*, etc. dont le système trachéen est réduit et clos, d'éléments gazeux extraits de l'eau et ayant traversé des téguments perméables (1), mais, dans le cas des moustiques, une telle hypothèse est inadmissible.

Quand l'air est bien réparti dans l'abdomen devenu horizontal de la nymphe, et que la température est favorable, si le soleil, en particulier, vient frapper l'insecte, on assiste rapidement à l'éclosion qui est, à peu de chose près, identique chez les huit espèces que nous avons étudiées.

L'abdomen de la nymphe se meut latéralement de la droite vers la gauche, et présente des mouvements de contraction qui semblent avoir pour résultat de libérer l'abdomen de l'insecte parfait. Le thorax de ce dernier présente également des mouvements qui entraînent un léger déplacement des taches d'air sous-cuticulaires, mais qui, cependant, ne doivent pas permettre à cet air de retourner dans le milieu extérieur par les trompettes, aux orifices internes desquelles le thorax de l'insecte doit s'appuyer. C'est alors que l'on voit apparaître entre les deux trompettes, au niveau où le thorax de la nymphe affleure l'eau, une petite fente longitudinale médiane ; chez trois espèces de moustiques au moins, cette fente laisse émerger d'abord une touffe de poils dressés, paraissant fixés sur la ligne médiane dorsale du moustique mais qui, en réalité, se trouveront de chaque côté de cette ligne quand le thorax de l'imago se sera dilaté et que le sillon médian qu'il présente à l'éclosion aura disparu (fig. 5).

Nous considérons ce faisceau de poils, issu le premier de la nymphe, comme un véritable *appareil d'éclosion* dont la forme est identique chez *Theobaldia annulata* et *Culex pipiens* chez lesquels les poils se réunissant au sommet constituent une tonnelle ; chez *Stegomyia fasciata*, la présentation est un peu différente, tous les poils étant disposés dans un plan sagittal.

La fente dorsale s'allonge rapidement en avant et en arrière puis deux fentes perpendiculaires se produisent en avant et le thorax bombé et déplissé sort presque en entier. C'est à ce moment que

(1) La peau des larves de nématocères (Culicidés, Chironomidés, *Chaoborus*) se laisse pénétrer par l'oxygène naissant produit par certaines algues ou par l'eau oxygénée. Il se forme un météorisme souvent mortel que nous étudierons dans un prochain travail.

l'abdomen de l'imago se retire complètement de celui de la nymphe qui se remplit d'air extérieur et sert de nacelle, ainsi que Réaumur l'a si bien décrit. Dès lors, et grâce aux mouvements péristaltiques et de

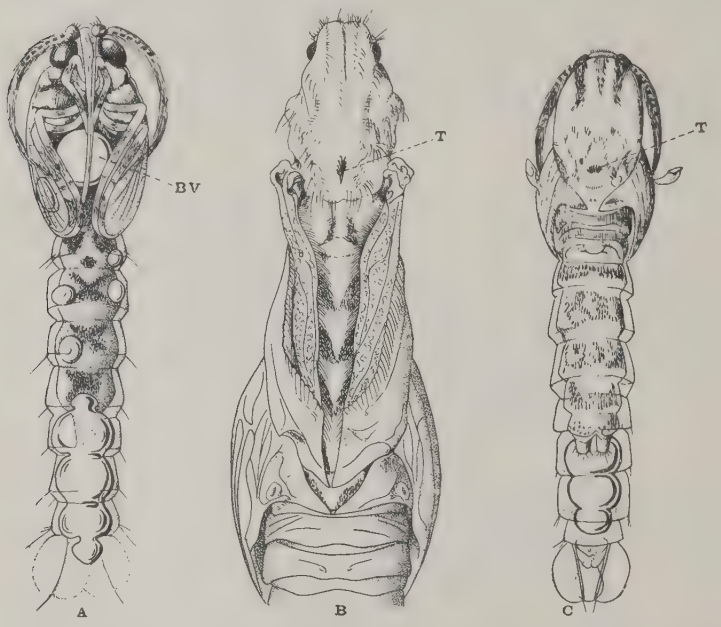


Fig. 5. — A. Nymphe de *Stegomyia fasciata* au début de l'éclosion; face ventrale. L'abdomen de l'adulte a déjà abandonné les trois derniers anneaux de la nymphe qui se sont remplis d'air sous-cuticulaire dont quelques bulles isolées se voient plus haut; BV, bulle hydrostatique placée entre les ailes et n'ayant aucun rapport avec l'air sous-cuticulaire.

B. *Theobaldia annulata* sortant de la mue nymphale. T, touffe de poils agissant probablement comme appareil d'éclosion.

C. *Stegomyia fasciata* mâle sortant de la mue nymphale et montrant en T la touffe de poils facilitant probablement l'éclosion.

reptation des anneaux de l'abdomen, le corps du moustique sort vertical ou légèrement oblique de la mue nymphale. Pendant toute cette période d'éclosion, le moustique ingère de l'air (1) et il est aisé de

(1) Il est facile d'étudier l'ingestion de l'air en mettant une nymphe en train d'éclore sur une lame où le processus se poursuit normalement. On aperçoit alors par transparence le fonctionnement très actif de la pompe pharyngienne et les bulles d'air qui passent derrière elle dans l'œsophage.

voir par transparence l'estomac distendu atteindre l'extrémité du 6e segment abdominal et déterminer un allongement supérieur d'un tiers environ, de cet abdomen à l'état normal. Cet accroissement progressif de l'abdomen, accompagné d'une incurvation à concavité dorsale, permet au moustique, appuyé par son intermédiaire sur le fond thoracique de la mue nymphale, de se dresser verticalement avec une

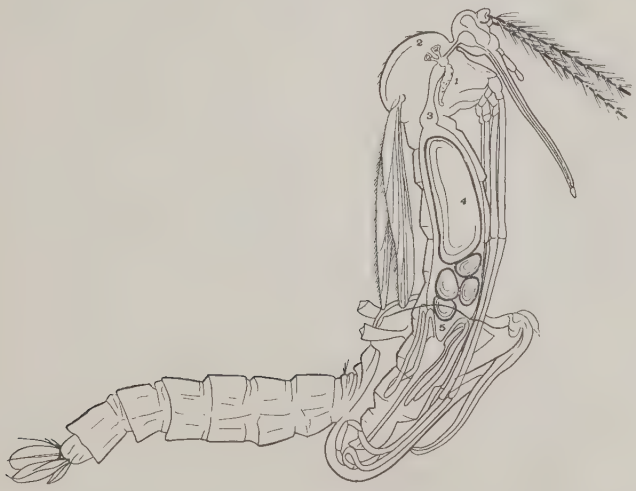


Fig. 6. — *Stegomyia fasciata* femelle pendant l'éclosion. Les diverticules latéro-dorsaux (2) et le diverticule ventral (1) sont vides, tandis que l'estomac (4) est rempli d'air qui refoule, en (5), le méconium. Les ailes semblent beaucoup plus courtes que l'abdomen dont elles atteignent le 5e anneau. La pointe de l'abdomen est arc-boutée au fond du thorax de la nymphe et facilite l'éclosion de l'insecte qui continue à ingérer de l'air.

grande rapidité et de dégager successivement sa tête, puis ses antennes, les palpes et la trompe qui sont logés dans des étuis chitineux spéciaux ; les ailes sortent de leurs gaines et prennent aussitôt leur aspect définitif après quelques frémissements. La tête et ses appendices sont encore incurvés vers le bas ; mais dès que les pattes antérieures, qui par des mouvements progressifs se dégagent de leur gaine, sont libérées, la tête se redresse vivement et prend son attitude normale. Pendant que la première paire de pattes se pose sur l'eau, les deux autres se dégagent par petites secousses de leurs gaines respectives

et, en peu de temps, se posent également sur l'eau, tandis que les trois derniers anneaux de l'abdomen conservent comme point d'appui l'extrémité du thorax de la mue nymphale (1). C'est alors que l'insecte s'évade, après avoir effectué une série d'opérations qui ne durent que quelques minutes quand la température est favorable. A ce moment, l'abdomen incurvé dépasse les ailes qui n'atteignent que le cinquième et plus rarement le sixième anneau abdominal. Une heure ou deux plus tard, l'abdomen a pris des dimensions plus réduites, les ailes le recouvrent entièrement. Les changements d'aspect de l'abdomen sont dus à l'air ingéré dont nous allons étudier maintenant la répartition chez l'insecte parfait.

Distribution de l'air. — Nos dissections nous ont permis de confirmer les localisations primitives de l'air dans le tube digestif, et secondaires dans les diverticules œsophagiens, localisations décrites pour la première fois par Marshall et Staley en 1932.

Nous rapportons ci-dessous nos observations sur ce sujet dans le cas de *Stegomyia fasciata*, *Theobaldia annulata*, *Culex pipiens* et *Anopheles maculipennis atroparvus* (2).

a) Stegomyia fasciata.

1. **Aussitôt après l'éclosion.** — Six insectes, dont trois mâles et trois femelles, présentent un estomac très distendu par l'air refoulant le méconium; une bulle d'air a été vue une fois dans le cardia ; rien dans les diverticules œsophagiens.

2. **Une heure après l'éclosion.** — Six insectes, dont quatre mâles et deux femelles, présentent encore de l'air dans l'estomac, mais en quantité moindre ; trois seulement en présentent un peu dans les diverticules.

3. **Vingt-quatre heures après l'éclosion.** — Six moustiques non nourris présentent de l'air dans les diverticules, le diverticule ventral s'avançant dans l'abdomen jusqu'au quatrième anneau ; rien dans le tube digestif, sauf un peu de méconium.

4. **Quarante-huit heures après l'éclosion.** — Même aspect qu'après vingt-quatre heures chez quatre insectes examinés.

(1) Dans le cas de *Stegomyia fasciata*, les trois paires de pattes se dégagent très vite et presque simultanément, puis, sans qu'elles aient touché l'eau, l'insecte est prêt à s'envoler.

(2) Les anophèles étudiés appartiennent à trois souches françaises dont nous avions obtenu plusieurs générations au laboratoire en collaboration avec M. Dao Van Ty.

5. Chez les *Stegomyia* âgés et nourris de sang, l'estomac ne renferme plus jamais d'air ; celui-ci est localisé dans les trois diverticules quand ils ne renferment pas de jus sucré.

b) **Theobaldia annulata.**

1. Nymphe sans air sous-cuticulaire avant l'éclosion. — Quatre exemplaires disséqués ne présentent d'air ni dans le tube digestif, ni dans les diverticules.

2. Nymphe avec air sous-cuticulaire. — Quatre insectes disséqués. Tous ont de grosses bulles d'air dans l'estomac ; deux ont des diverticules vides ; l'un a une bulle d'air dans le ventricule ventral et le dernier une petite bulle dans le diverticule ventral et une autre dans l'un des deux diverticules dorso-latéraux.

3. Nymphe dont la peau dorsale vient de se fendre. — Dix exemplaires disséqués ont parfois beaucoup d'air dans l'estomac, mais rien dans les jabots, sauf dans un cas où le diverticule ventral présentait une petite bulle.

4. Adultes pendant l'éclosion quand la tête vient de se dégager. — Six exemplaires ont l'estomac rempli d'air, rien dans les diverticules.

5. **Une demi-heure ou une heure après l'éclosion.** — Douze exemplaires ont l'estomac rempli d'air qui refoule le méconium près du pylore ; rien dans les diverticules, à l'exception d'un exemplaire qui présente quelques petites bulles dans le jabot ventral.

6. Entre la deuxième et la douzième heure. — Neuf exemplaires présentent de l'air en abondance dans l'estomac et trois d'entre eux dans les trois jabots. Un dixième moustique avait quelques bulles peu volumineuses dans l'estomac et avait le jabot ventral rendu turgescent par l'air, s'étendant dans l'abdomen jusqu'au sixième anneau.

7. De la douzième à la vingt-quatrième heure après l'éclosion. — Estomac renfermant du méconium, mais pas d'air. Les trois diverticules ont de nombreuses petites bulles dans les six exemplaires disséqués.

8. Troisième jour après l'éclosion. — Six exemplaires mâles présentent un estomac vide d'air et de méconium, et de l'air dans les jabots. Le jabot ventral s'étend jusqu'au sixième anneau abdominal.

9. Les *Theobaldia* âgés et nourris de sang ou de sucs de fruits ne renferment jamais d'air dans l'estomac et en présentent plus ou moins dans les ventricules. Quand le jabot ventral est vide de sucs de fruits ou de sirop de sucre, on aperçoit de nombreuses bulles d'air, s'étendant jusqu'au milieu de l'abdomen, et parfois même plus loin, chez les mâles, et de volume plus réduit chez les femelles gravides.

c) Culex pipiens.

1. Pendant l'éclosion. — Dix exemplaires dont les ailes n'atteignent que le sixième anneau, ont l'estomac rempli d'air, mais n'en présentent ni dans le jabot ni dans le reste du tube digestif. Un autre exemplaire présente au moment de l'éclosion quelques petites bulles dans le cardia, l'œsophage et dans un des jabots, probablement le ventral.

2. Vingt-quatre heures après l'éclosion. — L'estomac ne renferme plus que de petites bulles d'air, ainsi que les diverticules ; le méconium n'a pas encore été évacué chez quatre exemplaires disséqués.

3. Quarante-huit heures après l'éclosion. — L'estomac renferme encore de nombreuses petites bulles, mais pas de méconium. Les jabots renferment de l'air, le jabot ventral s'étend jusqu'au milieu de l'abdomen chez trois moustiques étudiés.

4. Plus de quarante-huit heures après l'éclosion. — Comme chez tous les culicidés adultes que nous avons étudiés, les animaux âgés de plus de quarante-huit heures, à jeun ou nourris de sang, ne présentent plus d'air dans leur tube digestif. Par contre, les trois diverticules sont remplis de petites bulles et le diverticule ventral s'étend plus ou moins loin dans l'abdomen au-dessous de l'estomac.

d) Anopheles maculipennis var. atroparvus.

1. Avant l'éclosion, quand la nymphe est horizontale et présente de l'air sous-cuticulaire. Deux exemplaires disséqués ne montrent d'air ni dans le tube digestif, ni dans les diverticules œsophagiens.

2. Au moment où la fente d'éclosion se produit sur la face dorsale du thorax. Deux exemplaires disséqués ne présentent d'air ni dans le tube digestif ni dans les diverticules.

3. Pendant l'éclosion, au moment où les pattes antérieures cherchent à se dégager. Un exemplaire disséqué a l'estomac distendu par l'air ingéré qui refoule le méconium ; un diverticule dorsal présente, seul, une petite bulle d'air.

4. Deux minutes après l'éclosion, trois exemplaires montrent leur intestin distendu par l'air et ne présentent rien dans les trois diverticules.

5. Une heure après l'éclosion, deux mâles ont l'intestin rempli d'air ; les diverticules latéraux n'ont rien, et l'un de ces mâles présente une petite bulle d'air dans le diverticule ventral. Trois femelles ont le tube digestif distendu par de l'air, absent dans les diverticules ; l'une d'elles néanmoins présente une bulle d'air dans un des petits diverticules.

6. **Vingt-quatre heures après l'éclosion**, quatre mâles ont le tube digestif vide d'air, sauf l'un d'eux qui possède une petite bulle dans le cardia ; les diverticules sont remplis de nombreuses petites bulles d'air. Une femelle a de l'air dans ses trois diverticules, mais n'en présente point dans l'intestin.

Comment l'air est-il évacué de l'estomac ? — Nous avons vu qu'au moment de l'éclosion de l'insecte adulte, l'estomac renferme une masse d'air assez considérable qui distend l'abdomen à tel point que ce dernier dépasse les ailes d'une longueur de trois anneaux, les anneaux VI, VII et VIII étant presque toujours découverts. Or, en moins de deux heures, l'estomac ne contient plus que la moitié à peine de l'air primitif et les diverticules présentent des bulles d'air assez nombreuses, mais dont le volume est certainement inférieur à celui de la masse perdue par l'estomac.

Pour Marshall et Staley, l'air stomacal est régurgité et entre dans les diverticules. Si cette hypothèse est exacte, ce qui est possible, bien que la structure de la valve du proventricule semble s'opposer au passage de l'air en sens inverse de celui de sa pénétration dans l'estomac, une certaine quantité de cet air doit être éliminée par éructation. Nos observations nous permettent de croire qu'une partie de l'air stomacal peut être éliminé par l'anus bien que, en dépit de nos recherches, nous n'ayons jamais aperçu d'air dans l'intestin postérieur des moustiques.

Dans le cas où les valvules du proventricule s'opposeraient au retour de l'air vers l'œsophage, il est possible également que tout l'air stomacal soit expulsé par l'anus et que l'air des diverticules soit nouvellement aspiré par l'insecte pour permettre à ces organes de remplir leurs multiples fonctions physiologiques.

DISCUSSION. — Les curieux phénomènes que nous venons de signaler, s'ils sont nouveaux dans le cas des moustiques et de divers diptères nématocères, viennent s'ajouter à d'autres faits du même ordre observés chez d'autres insectes.

C'est Réaumur (1738) qui, en décrivant les métamorphoses de la mouche bleue de la viande, semble avoir été le premier auteur à signaler le rôle de l'air dans l'éclosion des insectes. Voici d'ailleurs ce qu'il écrit à ce sujet :

« Nous avons déjà parlé de ce phénomène à l'occasion des mouches de vers mangeurs de pucerons ; nous en avons expliqué la cause, qui est la même qui donne un accroissement si subit au volume du corps de toutes les mouches nouvellement nées ; l'air qu'elles commencent à respirer et qu'elles

respirent en grande quantité est ici le principal agent ; l'air qui s'introduit dans la capacité du corps, le gonfle. J'en ai eu des preuves toutes les fois que je l'ai voulu ; sur-le-champ, j'ai rendu les corps de plusieurs de nos grosses mouches bleues, aussi petits qu'ils l'étoient une demi-heure auparavant, et celà en les perçant avec une épingle ; l'air en sortoit sur-le-champ avec bruit ».

Cependant ce savant observateur ne signala pas la présence d'air dans l'appareil intestinal de l'insecte. Cette dernière découverte est due à Monnier qui, en 1872, a essayé d'expliquer l'origine de l'air du tube digestif et son rôle physiologique, dans une courte note publiée à l'Académie des Sciences, que nous reproduisons ci-dessous *in extenso* :

« Après avoir admis la circulation du sang chez les larves aquatiques, mon but est de démontrer :

1° Que les trachées n'interviennent pas dans l'acte respiratoire de ces larves, comme on a cru le reconnaître jusqu'à ce jour, mais que la respiration est, de tout point semblable à celle des autres animaux aquatiques ;

2° Que les trachées, dont toutes les larves sont pourvues, ont pour but de répandre uniformément une couche d'air sous la peau de la nymphe, afin de rendre tout frottement impossible entre l'insecte et son enveloppe ;

3° Que les organes respiratoires de la nymphe servent à accumuler une profusion d'air dans l'œsophage et le gésier, et que cet air, expulsé subitement par l'anus, projette mécaniquement l'insecte hors de son tégument compliqué, instantanément et sans lutte. »

Il faut arriver au travail fondamental de Jousset de Bellesme (1877), ignoré de la plupart des auteurs étrangers, pour bien comprendre le rôle de l'air ingéré dans l'éclosion et la formation de l'insecte parfait. L'attention de cet auteur s'était fixée sur l'évolution de la libellule déprimée dont la nymphe aquatique sort de l'eau et s'attache à des plantes ou à divers objets émergés. L'insecte adulte qui éclôt acquiert rapidement une longueur double de celle de sa dépouille nymphale ; or, cet accroissement somatique est obtenu par ingestion d'air qui force le liquide sanguin à se porter sur les organes périphériques et permet à l'insecte de prendre sa forme définitive. C'est ainsi que les yeux, qui étaient plissés, sont distendus par le sang et deviennent globuleux et saillants ; de même les ailes se déplissent et s'allongent de 3 centimètres en un quart d'heure. Tous ces phénomènes disparaissent si l'on vient à piquer le tube digestif et à le vider de l'air qu'il contient.

En 1884, Palmen, puis Fritze en 1888, et plus tard Sternfeld en 1907, ont mis en évidence l'importance du rôle de l'air ingéré par les éphémères : en effet, le tube digestif si actif chez les larves et les

nymphes perd ses fonctions de nutrition chez l'adulte, puisque ces animaux ne se nourrissent pas durant leur courte existence, et il devient uniquement un organe aérostatique. Fritze admet en outre que cet air facilite les fonctions des organes génitaux.

En ce qui concerne les insectes terrestres, c'est à Künkel d'Herculais que nous devons les premiers travaux sur le rôle de l'air ingéré, dans les mues, l'éclosion de l'adulte et la ponte. Cet auteur a étudié ces divers phénomènes chez les sauterelles ; il a constaté que pour éclore et muer, les animaux distendaient leur jabot avec de l'air qu'ils déglutissent, ce qui augmente la pression du sang dans le corps et permet au nouveau stade de se dégager de sa mue. Künkel d'Herculais a constaté qu'au moment de muer, les trachées de l'insecte sont à peu près vides d'air et qu'elles ne peuvent jouer aucun rôle

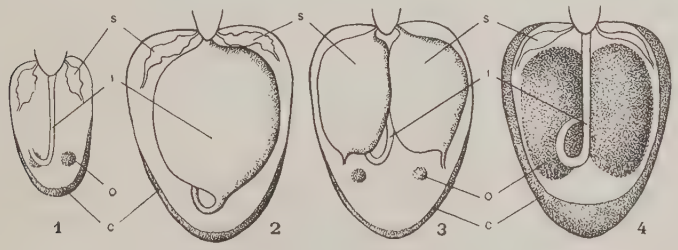


Fig. 7. — Divers aspects schématiques de l'abdomen de *Lucilia sericata*. 1, mouche venant d'éclore ; 2, 5 minutes après l'éclosion, abdomen distendu par l'intestin rempli d'air ; 3, 10 heures après l'éclosion, intestin vide d'air et sacs trachéens distendus ; 4, animal bien nourri, disséqué le 6e jour, les ovaires (o) et le corps adipeux (c) sont bien développés et ont refoulé les sacs trachéens (s). D'après Evans, 1935.

mécanique. C'est donc l'air du jabot qui permet à la sauterelle d'augmenter sa pression intérieure et de refouler son sang, soit dans l'ampoule cervicale, soit dans différentes régions du corps, en particulier dans les ailes et les élytres.

En note, Künkel d'Herculais mentionne que le Professeur Balbiani lui a signalé que les jeunes d'un hémiptère homoptère, *Delphax* (*Conomelus*) *limbata*, Fab., remplissent leur tube digestif d'air avant de sortir de l'œuf qui est pondu dans les tiges de jonc.

Nous devons encore à cet auteur d'intéressantes observations sur la ponte des acridiens qui déposent leurs œufs profondément dans la terre. Grâce à l'air ingéré au moment de la ponte, le corps de l'animal s'allonge de plusieurs centimètres et les œufs peuvent être placés dans un endroit favorable.

Depuis ces publications, d'autres auteurs ont signalé que la seule fonction du tube digestif de certains lépidoptères qui ne se nourrissent pas à l'état adulte, est, comme chez la plupart des éphémères, de se remplir d'air, de faciliter la dernière mue et de jouer un rôle aérostatique plus ou moins important.

Dans le cas du *Bombyx mori*, le rôle de l'air ingéré a été bien décrit en 1885 par Maillot. Cet auteur signale qu'à sa sortie du cocon, le papillon est tout humide, ses téguments sont mous, ses ailes courtes, pendantes et épaisses, mais au bout d'un quart d'heure à peine, l'animal a pris un aspect normal grâce à l'air ingéré qui distend fortement le jabot et remplit tout l'appareil trachéen.

Dans le cas des diptères cycloraphes, une excellente étude d'Evans (1935) établit que l'animal mou et ridé qui sort de la pupe de *Lucilia sericata* et dont le tube digestif ne renferme pas d'air, prend, en cinq minutes, sa forme définitive par suite de l'air remplissant l'intestin moyen où il séjourne environ dix heures (fig. 7)

Chez divers insectes aquatiques, les mues sont favorisées par l'ingestion d'eau qui joue le même rôle que l'air en augmentant la pression intérieure de l'insecte.

Résumé

1. Le mécanisme d'éclosion des moustiques a été étudié chez les espèces suivantes : *Anopheles maculipennis*, *A. bifurcatus*, *Culex pipiens*, *C. hortensis*, *Stegomyia fasciata*, *St. albopicta*, *Theobaldia annulata*, et *T. longiareolata*.

2. Eysell (1905), puis Marshall et Staley (1932) ont montré qu'au moment de l'éclosion, les moustiques ingèrent en grande quantité de l'air qui, d'après le premier auteur, irait s'accumuler dans les ventricules œsophagiens, alors que suivant les seconds, il irait directement dans l'estomac.

Nos nombreuses dissections nous ont permis de confirmer le travail de Marshall et Staley : l'air s'accumule toujours dans l'estomac dont il refoule le méconium.

3. En ce qui concerne l'origine de l'air sous-cuticulaire présenté par la nymphe au moment de l'éclosion, nous admettons, comme Mac Gregor, qu'il vient de l'extérieur et pénètre par les trompettes respiratoires libres après le décollement de l'insecte parfait de la peau nymphale. Cet air ne provient certainement pas de la bulle d'air hydrostatique comme l'admettent Marshall et Staley, car cette bulle est à l'extérieur du corps de la nymphe.

4. L'éclosion des nymphes des espèces étudiées ne se produit que rarement à la température de 5° C. Cependant, si les nymphes mûres sont mises au frigidaire en état de diapause conditionnelle, elles éclosent parfois moins d'une heure plus tard, dès que la température atteint 15° C. L'utilisation de cette technique permet d'étudier l'éclosion quand on le désire.

5. Lorsque la peau nymphale se fend, on voit émerger un faisceau de poils rigides qui, à notre avis, constituent un véritable *appareil d'éclosion* agissant sur le point de moindre résistance de la peau nymphale.

6. Durant l'éclosion, la curieuse attitude verticale du moustique est déterminée par la forme incurvée de l'abdomen rempli d'air, qui s'appuie sur le fond thoracique de la nacelle nymphale.

7. Après avoir étudié la répartition de l'air ingéré qui se trouve dans l'estomac au moment de l'éclosion, et dans les diverticules vingt-quatre heures plus tard, nous ne pouvons affirmer que la masse gazeuse qui gonfle ces diverticules provient de l'air de l'estomac, car la valvule du proventricule doit s'y opposer.

Comme le gaz stomacal sort parfois par l'anus, ainsi que nous l'avons constaté, il se peut que l'air des diverticules provienne d'une ingestion postérieure à l'éclosion, quand l'estomac, en grande partie vidé, n'exerce plus qu'une faible pression dans l'abdomen et permet aux diverticules de se remplir d'air et de jouer un rôle aérostatique.

8. Nous ajouterons que ces phénomènes, récemment découverts chez les moustiques, viennent se joindre à ceux déjà connus depuis les recherches de Jousset de Bellesme chez les libellules, de Künkel d'Herculais chez les acridiens, et d'autres auteurs chez les éphémères et certains lépidoptères.

Bibliographie

Bouvier (E. L.). — *Habitudes et métamorphoses des Insectes.* Bibliothèque de Philosophie scientifique. Flammarion, édit. Paris, 1921.

Brocher (F.). — *L'aquarium de chambre.* Payot, édit., Paris, 1913.

Evans (A. C.). — Some notes on the biology and physiology of the sheep blowfly, *Lucilia sericata* Meig. *Bull. Ent. Res.*, XXVI, 1935, p. 26.

Eysell (A.). — Die Stechmücken. *Mense Handbuch der Tropenkrankheiten*, II, 1905, pp. 44-94.

— Das Schlüpfen der Steckmücken. *Arch. f. Schiffs-und Trop.-Hyg.*, XV, 1911, pp. 273-282.

Fritze. — Ueber den Darmkanal der Ephemeriden. *Ber. Ger. Freiburg*, IV, 1888 (voir aussi *Journ. Roy. Micr. Soc.*, 1889, p. 206).

Geer (C. de). — *Mémoires pour servir à l'Histoire des Insectes.* VI, Esselberg, édit., Stockholm, 1776.

Howard (L. O.), Dyar (H. G.) et Knab (Fr.). — *The mosquitoes of north and central America and the West Indies.* I, Carnegie Institution, 1913.

Hurst (C. H.). — *The pupal stage of* Culex. In-8° de 26 p., 1 pl. Manchester, 1890.

Jousset de Bellesme. — Phénomènes qui accompagnent la métamorphose chez la libellule déprimée. *C. R. Acad. Sc.*, LXXXV, 1877, p. 448.

— *Travaux originaux de Physiologie comparée.* T. I. Insectes, Digestion, Métamorphoses. Paris, Germ.-Baillière, édit., 1878.

Künkel d'Herculais (J.). — Rôle de l'air dans le mécanisme physiologique de l'éclosion, des mues et de la métamorphose, chez les insectes orthoptères de la famille des Acridiens. *C. R. Acad. Sc.*, CX, 1890, p. 807.

— Mécanisme physiologique de la ponte chez les insectes orthoptères de la famille des Acridiens. Rôle de l'air comme agent mécanique et fonctions multiples de l'armure génitale. *C. R. Acad. Sc.*, CXIX, 1894, p. 244.

Langeron (M.). — Emploi du lactophénol pour le montage des Nématodes. *C. R. Soc. Biol.*, LVIII, 1905, p. 750.

Macgregor (M. E.). — *Mosquito Surveys.* A handbook for antimalarial and anti-mosquito field workers. Londres, 1927, pp. 66-67.

Maillot (E.). — *Leçons sur le ver à soie du mûrier.* In-8°, Montpellier, 1885.

Marshall (J. F.). — *The British Mosquitoes.* British Museum, édit., 1938.

Marshall (J. F.) et Staley (J.). — On the distribution of air in the œsophageal diverticula and intestine of mosquitoes. *Parasitology*, XXIV, 1932, p. 388.

Meinert (Fr.). — De eucephale Myggelarver (Sur les larves eucéphales des Diptères. Leurs mœurs et leurs métamorphoses). *Vidensk. Selsk. Skr. 6 Raek. naturvidensk. og mathem. Afd.*, III, 4, 1886.

Monnier (M.). — Sur le rôle des organes respiratoires chez les larves aquatiques. *C. R. Acad. Sc.*, LXXIV, 1872, p. 235.

Nuttall (G.) et Shipley (A. E.). — Studies in relation to malaria. II. The structure and biology of Anopheles. *The Journ. of Hygiene*, I, 1901, p. 454.

Palmen (J. A.). — *Ueber paarige Ausführungsgänge der Geschlechtsorgane bei Insecten.* In-8° de 108 pages, Helsingfors, 1884.

Réaumur (de). — *Mémoires pour servir à l'Histoire des Insectes.* IV. Imprimerie royale, Paris, 1738, pp. 341 et 604.

Sen (P.). — Observations on the emergence of Anophelines. *Rec. Malar. Surv. of India*, V, 1935, pp. 159-172.

Sen (S. K.). — Observations on the bionomics of *Aëdes (Stegomyia) albopicta* Skuse. *Rept. Proc. 5th Ent. Meet., Pusa, 1923.* Calcutta, 1924, pp. 215-225, 1 pl.

Shute (P. G.). — A simple method of obtaining eggs of mosquitoes. *Ann. Trop. Med. and Parasit.*, XXVII, 1933, pp. 469-470.

Sternfeld (R.). — Die Verkummerung der Mundtheile und der Funktions Wechsel der Darm bei den Ephemeriden. *Zool. Jahrb. Anat.*, XXIV, 1907, pp. 415-430, 1 pl.

Wesenberg-Lund (C.). — Contributions to the biology of the danish Culicidæ. *Kgl. Danske Vidensk. Skrifter, Naturv. og Math.*, VII, 1920-1921, pp. 1-205, 20 pl.

Wigglesworth (V. B.). — *Insect physiology.* Methuen et C°, édit., Londres, 1934.

Institut de Parasitologie. Station Expérimentale de Richelieu (I.-et-L.)
et laboratoire de Recherches de la Faculté de Médecine de Paris
(Directeur : Professeur E. Brumpt).

LES SECTEURS CLAIRS ET SOMBRES DES COLONIES DE LEVURES

Par Maurice LANGERON et Paul GUERRA

Les colonies géantes de levures et de champignons levuriformes présentent assez fréquemment à leur surface des secteurs dont la coloration claire ou foncée tranche sur le fond général de la colonie. Ces secteurs peuvent être isolés ou au nombre de 2, 3, 4, etc. ; ils forment alors une rosace ressemblant à une fleur (fig. 4, pl. IV), surtout lorsqu'ils sont allongés en forme de pétales.

Ces secteurs échappent la plupart du temps à l'observation, parce que les microbiologistes emploient le déplorable procédé de la culture en strie, couvrant toute la surface de la gélose inclinée. Il en résulte que les microcolonies, formant la strie d'ensemencement, fusionnent en quelques heures et n'ont pas le temps de développer leur morphologie macroscopique. On n'a bientôt plus qu'une pâte crémeuse uniforme qui peut se plisser par la suite mais qui ne présente aucune autre différenciation. La strie n'est bonne que pour se procurer rapidement une assez grande quantité de culture jeune et active, en vue d'une épreuve de fermentation ou d'assimilation. Elle est funeste pour l'étude.

Une autre erreur très répandue consiste à n'étudier que de jeunes colonies de 24 ou 48 heures : c'est ainsi que la plupart des figures hâtivement publiées depuis quelques années par les auteurs qui se sont occupés de zymologie médicale ne présentent aucun détail utilisable : ce sont des images banales qu'on rencontre au début du développement de toutes les levures et qui n'ont rien de caractéristique.

Les colonies de levures doivent être conservées et observées pendant des semaines et même des mois : si le milieu est bien préparé, les colonies inférieures conservent leur vitalité, sans se dessécher, pendant 4, 5 ou 6 mois. C'est alors qu'on peut étudier les variantes S et R avec leur alternance et leur réversibilité, ou encore les secteurs qui vont faire l'objet de ce mémoire. Dans les légendes de nos figures, nous donnons autant que possible l'âge de nos cultures.

C'est naturellement chez *Candida albicans* que nous avons le plus

Annales de Parasitologie, t. XVIII, nos 1-2-3. — 1941, p. 95-111.

fréquemment observé l'apparition de secteurs, parce que c'est l'espèce la plus répandue et celle dont nous avons pu examiner le plus grand nombre de souches. Mais d'autres espèces présentent la même particularité. Ce sont, jusqu'ici : *C. triadis*, *C. pseudotropicalis*, *C. guilliermondi*, *C. flareri*, *C. parakrusei*, *C. pelliculosa*.

Les secteurs ne sont pas spéciaux aux colonies de levures anascosporées. On les observe aussi chez des levures ascosporées, notamment dans le genre *Debaryomyces* où ils paraissent fréquents.

Les données bibliographiques concernant cette question sont extrêmement rares, pour ne pas dire inexistantes, à cause des deux erreurs de technique et d'observation que nous venons de signaler. C'est tout au plus si nous avons trouvé une indication de ces secteurs dans l'excellent ouvrage d'Henrici (1930, p. 205) et dans deux mémoires de Punkari et Henrici (1933 et 1935). Les secteurs ont été vus aussi dans des cultures de bactéries (Hadley, 1919, dissociation marginale, *Ztschr. f. Hyg.*, LXXXIX, 1919, p. 339 ; Gratia, 1922, *Jl exper. med.*, XXXV, 1922, p. 287 ; A. D. Dulaney, 1928, dissociation marginale, *Jl. infect. dis.*, XLII, 1928, p. 575-588) : dans ces trois cas, il s'agit de cultures d'*Escherichia coli*.

Dans notre mémoire de 1938 (ces *Annales*, XVI, 1938, pp. 36-84, 162-179, 429-476, 481-525, pl. XII-XXXIII), nous avons mentionné l'existence de secteurs clairs ou sombres chez *C. albicans* (p. 443), *C. pelliculosa* (p. 463), *C. guilliermondi* (p. 469), *C. parakrusei* (p. 491 et 493), *C. flareri* (p. 499), en insistant particulièrement sur *C. parakrusei*.

I. — Secteurs des colonies de levures anascosporées.

A. — Secteurs des colonies de Mycotoruloïdées (Candida)

1. Candida guilliermondi. — Nous avons signalé (1938, p. 469) l'existence de stries rayonnantes alternativement blanches et sombres, dans nos souches de *C. guilliermondi*. Nous pouvons en figurer un exemple remarquable fourni par la souche 782 B isolée par Rivalier à l'hôpital Saint-Louis, d'une onychomycose (cas Picard) (fig. 4, pl. IV). La netteté des fermentations ne laisse aucun doute sur l'identification de cette souche.

2. Candida pseudotropicalis. — Les secteurs doivent apparaître rarement dans les colonies de cette espèce, car la surface est demi-transparente, en glacis, non bombée. Nous avons pourtant rencon-

tré un bel exemple de secteurs sombres dans une colonie de notre souche 496 B (1938, p. 465), souche précédemment identifiée par la fermentation si caractéristique du lactose (fig. 6, pl. IV), ainsi que dans la souche 768 B (souche type de Castellani).

3. Candida parakrusei. — Nous avons précédemment décrit (1938, p. 491, pl. XXXII, fig. 4) les secteurs jaunâtres qui apparaissent fréquemment sur les bords des colonies de cette espèce. Nous avons signalé les énormes cellules, généralement acido-résistantes, qui forment la plus grande partie de ces secteurs, et nous avons figuré les arbuscules et chaînettes si remarquables de ces blastospores géantes (fig. 1-3, pl. XVIII, 1938). Ces microphotographies, auxquelles nous prions le lecteur de se reporter, montrent les blastospores naissant soit directement d'une microcolonie de blastospores rondes de petite taille, soit d'un point quelconque d'un rameau du type *Mycocandida*, si caractéristique dans cette espèce (1938, pl. XXVI, fig. 1 et 3). Nous avons décrit aussi les articles en banane, fréquents dans les filaments axiaux des arbuscules de blastospores géantes. Nous avons indiqué que, malgré leur acido-résistance, ces éléments ne sont pas des chlamydospores, parce qu'ils n'ont pas de double contour et bourgeonnent sur place. Nous donnons de nouveaux exemples de secteurs et de blastospores géantes (fig. 5, pl. IV et fig. 1 et 2, pl. VIII).

4. Candida flareri. — Nous avons rencontré, dans un repiquage de cette espèce (souche type 583 B), un bel exemple de secteurs plissés, clairs et sombres (fig. 7, pl. IV) tels que nous les avons précédemment décrits (1938, p. 499).

5. Candida pelliculosa. — Nous avons signalé (1938, p. 463, pl. XXIII, fig. 6) l'existence de fins secteurs sombres, rayonnant à la surface des colonies.

6. Candida albicans. — L'apparition de secteurs, dans les colonies de *Candida albicans*, doit être assez banale puisque nous l'avons observée chez nos souches 189, 193, 231, 264, 296, 308, 332, 335, 374, 391, 410, 437 B, 453 B, 587 A et 587 B, 646 (fig. 1, 2, 3, 15, pl. IV).

Ces secteurs sont plus ou moins développés, de couleur plus sombre, ivoire ou jaune sale, et tranchent sur le fond blanc de la colonie normale.

Ils semblent partir du fond de la colonie, car les parties blanches paraissent les recouvrir. D'autre part la vitesse de croissance ne doit pas être égale dans les secteurs blancs et les secteurs sombres; ces

derniers dépassent en général le bord de la colonie et se terminent fréquemment sur leur bord libre par une couronne de filaments qui s'enfoncent dans le milieu, alors que, sur les parties blanches, les limites de la colonie sont nettement dessinées.

Ce sont les secteurs de cette espèce que nous avons particulièrement étudiés, mais les particularités que nous allons décrire se retrouvent dans les secteurs des autres espèces.

Morphologie microscopique des secteurs sombres. — Si on prélève séparément des parcelles de culture sur une partie blanche et sur un secteur sombre, on constate qu'aux différences de couleur et de vitesse de croissance correspond une différence morphologique si accentuée, si frappante, que nous avons d'abord cru qu'il s'agissait d'un mélange d'espèces.

Variante sombre de la souche 296 A (ovalis) (1). — Nous avons choisi cette souche pour étudier le phénomène, car il est chez elle très prononcé.

La partie blanche (fig. 2, pl. VI) est constituée par de petites levures légèrement ovales, isolées ou présentant un petit bourgeon.

Au contraire, dans les secteurs sombres (fig. 1, pl. VI), on trouve de très grandes cellules (10 à 15 fois plus grandes que celles des secteurs blancs), les unes de forme allongée, ayant quelquefois l'apparence de bouteilles pourvues d'un col, les autres ovales avec un prolongement en bec. Le contenu de ces éléments n'est pas homogène : on y voit parfois une masse arrondie assez bien délimitée.

Ces énormes différences morphologiques se retrouvent plus ou moins accusées chez toutes les souches présentant des secteurs sombres. Pourtant c'est en général la forme allongée qui prédomine dans les autres souches, la forme en bouteille étant beaucoup plus rare.

Réversibilité. — Nous avons pu observer la réversibilité des secteurs sombres à la forme normale blanche, au cours d'expériences entreprises pour séparer les deux espèces, à l'époque où nous pensions que l'apparition des secteurs sombres était due à un mélange.

Par une série de dilutions progressives, effectuées en partant des secteurs sombres, nous sommes arrivés à obtenir des colonies aplaties de la teinte du secteur sombre et formées de grandes cellules allongées, et, d'autre part, quelques colonies blanches typiques.

(1) La souche dite *ovalis* est l'ancien *Mycotoruloides ovalis* Langeron et Talice 1932, qui, étudié de nouveau par Langeron et Guerra (1938), s'est montré être un *Candida albicans* typique. Cette souche est intéressante à plusieurs points de vue : elle a été isolée à Coblentz, en 1927, par le médecin principal Pichon, chez un soldat français de l'armée du Rhin, atteint de rhino-pharyngo-stomatite ; en outre, elle a attiré notre attention par la netteté de ses secteurs sombres et elle a été l'objet de nos premières recherches à ce sujet.

Avec la souche *ovalis* 296, nous avons pratiqué jusqu'à 9 séparations successives par la méthode de dilution.

Les colonies obtenues aux différentes étapes se maintenaient quelque temps « pures », c'est-à-dire uniquement formées de grandes cellules pâles, allongées. Mais tôt ou tard on voyait apparaître de petites cellules rondes ; le phénomène devenait même visible à l'œil nu. Au centre d'une colonie sombre, on apercevait un point blanc qui envahissait progressivement toute la colonie. Quelquefois, le point blanc se formait au centre de la colonie et on voyait à ce niveau des filaments s'enfoncer comme des racines dans la profondeur du milieu. On pouvait même se demander si la coloration blanche n'était pas due à la plus grande épaisseur de la colonie qui augmentait l'opacité.

Cette réversibilité s'est manifestée toujours avec la même intensité aux différentes étapes de nos séparations par dilution, sans que le milieu employé pour l'observation des cultures ait eu une influence quelconque.

Cultures sur lames montrant le mécanisme de la formation des secteurs sombres. — Parallèlement à nos expériences de dilution, nous avons voulu obtenir des cultures monocellulaires, de manière à trancher définitivement la question.

La technique employée a été la suivante. Nous avons d'abord fait une culture sur lame en partant d'une colonie très jeune de la variante sombre. Nous laissons la culture sur lame se développer pendant 8 jours. Nous sortons alors la lame et, avec une fine aiguille montée, nous prélevons, sous le microscope, la pointe d'un filament. On choisit ce filament bien dégagé, de sorte que son extrémité soit suffisamment éloignée de la strie d'ensemencement. Il est très facile ainsi de prélever des blastospores provenant d'un germe unique. Avec la colonie ainsi obtenue, on fait de nouvelles cultures sur lames. Nous avons pratiqué ainsi jusqu'à 5 « purifications » successives.

Or, même après ces « purifications », le dimorphisme se manifeste. Il n'y a donc pas de mélange d'espèces ou de souches.

Exemples de dimorphisme cellulaire dans les colonies à secteurs.

1. *Candida albicans* souche *ovalis* 296 A. — La figure 2, planche VII, représente un point d'une lame de la variante sombre pure après isolement. Au milieu de microcolonies formées de cellules allongées du type sombre (on voit même en haut à droite une cellule en bouteille) on voit un rameau des plus typiques de *Candida albicans*

avec verticilles globuleux de petites blastospores, appartenant manifestement à la forme normale blanche.

Un autre aspect (fig. 1, pl. VII), obtenu au cours des purifications, montre la coexistence de la variante sombre (en bas, à gauche) avec la forme normale blanche qui donne une colonie isolée typique avec chlamydospores.

La figure 4, planche VIII, représente une portion d'un long filament, partant d'une strie sombre, qui donne, sur un même rameau, des verticilles de la forme normale blanche et des verticilles de la variante sombre. Cette microphotographie prouve définitivement qu'il ne s'agit pas d'un mélange de souches, mais d'un dimorphisme cellulaire réversible.

2. *Candida albicans*, souche 391 A. — La figure 4, pl. VI, montre une strie de la variété sombre provenant d'une colonie purifiée par isolement monocellulaire. On voit s'entremêler les deux types de blastospores et surgir un rameau issu d'une grande cellule du type sombre. La figure 6, pl. VI, montre le même phénomène avec une netteté frappante. On assiste ainsi à la *naissance d'un secteur sombre*, dont le début est représenté par l'arbuscule si bien isolé. Cette figure fait comprendre aussi avec quelle facilité on peut prélever à l'aiguille, sous le microscope, une des deux variétés de cellules.

3. *Candida albicans*, souche *oosporoides* (1) n° 587 B. — La figure 5, pl. VI, montre une strie faite avec un secteur sombre avant isolement par culture monocellulaire. On voit le début d'un secteur sombre, formé de cellules allongées : c'est cette zone qui filamente la première et enfonce ses racines dans la partie blanche, formée de petites cellules arrondies fortement colorées.

7. Candida triadis. — Dans notre mémoire de 1938 (p. 455 et 476, fig. 1, pl. XXI) nous disions n'avoir jamais observé, pour cette souche, de variante membraneuse ou de secteurs clairs ou sombres. Depuis, nous en avons vu dans des colonies de 3 mois et plus, de souches d'autre provenance que notre souche type de 1932 (souche 587 A) : souches 795 B, souche Peyre provenant de crachats, cas Brégier (fig. 8, pl. IV) ; 753 B, souche norvégienne du docteur E. Aaser, à chlamydospores (fig. 10, pl. IV) ; 663 B, souche Douvier provenant de crachats (fig. 11, pl. IV) ; 948 B, souche Henry provenant d'un poulet (fig. 16, pl. IV).

(1) La souche dite *oosporoides* est un *Candida albicans* typique, donnant des secteurs sombres. Cette souche nous a été adressée par le Dr Zach, de Vienne, qui l'a isolée d'un cas d'onychomycose et l'a décrite en 1933 sous le nom de *Blastodendrion oosporoides*.

La figure 4, pl. VII représente une modification très curieuse que nous avons déjà observée dans les souches du type *ovalis* à secteurs sombres (fig. 4, pl. VIII) : c'est l'apparition de verticilles constitués par des blastospores baculiformes. Nous nous sommes demandé si *C. triadis*, qui présente aussi ce phénomène (fig. 4, pl. VII) et dont les blastospores sont grandes et allongées, ne serait pas simplement une variante sombre stabilisée de *C. albicans*. C'est d'autant plus probable que les seuls caractères nets, permettant de séparer *C. triadis* de *C. albicans*, sont : la couleur plus foncée, l'apparition assez tardive d'un voile muqueux et l'assimilation moins nette de l'urée. Or ces caractères sont ceux des colonies sombres de *C. albicans*.

Caractères biologiques des éléments des secteurs sombres. — Nous avons étudié les caractères biologiques des colonies sombres récentes, avant l'apparition des blastospores du type normal. Comme il était à prévoir, ces propriétés (fermentations, élection des sucres, assimilation de l'azote) sont à peu près identiques à celles des colonies blanches pures.

Toutefois, dans les milieux liquides, nous avons quelquefois observé l'apparition de larges anneaux muqueux chez les variantes sombres, mais ces anneaux sont transitoires. Nous avons de même constaté le retour très rapide à la normale blanche des colonies sombres en milieu liquide.

B. — Secteurs des colonies de torulopsoïdées

Nous avons constaté l'apparition de secteurs dans un certain nombre de souches de *Torulopsis* et de *Rhodotorula*. Le plus souvent ces secteurs diffèrent à peine du reste de la colonie par leur coloration : ce sont plutôt des zones en relief ou en creux, par exemple chez *Torulopsis aeria*, *T. laurentii*, *T. sphærica*, *T. neoformans* souche 812 B (cas Pinet, service du Prof. Debré). Nous avons aussi une souche non déterminée de *Rhodotorula*, provenant du Maroc (n° 258 M), qui présente cette particularité. Mais c'est surtout chez *Torulopsis pulcherrima* (Lindner) Lodder qu'on peut observer de beaux secteurs blancs sur un fond rouge foncé ou des secteurs rouges sur fond blanc (fig. 14, pl. IV).

On sait que cette espèce produit généralement un pigment rouge foncé qui peut, soit diffuser dans la masse de la gélose en la colorant sur une étendue plus ou moins grande, soit imprégner les éléments levuriformes eux-mêmes qui prennent alors une teinte rouge foncé. M. W. Beijerinck (1918) a élucidé la genèse de cette coloration ; la

levure produit un chromogène incolore qui, en présence de traces d'un sel de fer soluble et d'oxygène, donne par oxydation ce pigment très coloré. L'expérience est très facile à réaliser en ajoutant à la gélose environ 0 gr. 010 p. 100 de citrate de fer ammoniacal (ou d'un autre sel soluble, chlorure ferrique, sulfate ferreux, etc.). Mais la pigmentation apparaît la plupart du temps spontanément parce que le glycose brut renferme presque toujours des traces de fer parmi ses nombreuses impuretés.

Cette espèce (1) est d'autant plus intéressante en mycologie médicale qu'elle a souvent donné lieu à des méprises d'autant moins excusables qu'elle est très facile à reconnaître, soit à son pigment si particulier, qui en fait un réactif très sensible du fer, soit à ses grosses cellules à paroi très épaisse et à inclusions lipidiques (levure à graisse de Beijerinck) qui présentent tous les caractères des chlamydospores (fig. 8, 10, 12, pl. V). En ce qui concerne ces éléments, on trouve généralement, en examinant les colonies, des éléments levuriformes dimorphes : les uns (blastospores) plus nombreux, ovalaires, petits (2,5 à 3 μ) ; d'autres (chlamydospores) beaucoup plus volumineux (3,5 à 6 μ), arrondis, à paroi très épaisse, avec une capsule mucilagineuse plus ou moins développée. Au centre de ces grosses cellules rondes se trouve un globule graisseux colorable par le soudan III et les autres colorants des lipides. En outre, on trouve encore dans les colonies des ébauches de filamentisation plus ou moins développées, formées de blastospores allongées, mais sans verticilles de blastospores arrondies (fig. 9, 12, 13, 17, pl. IV, souche de Delft).

Parmi les méprises auxquelles nous faisions allusion plus haut, nous pouvons signaler :

1. *Monilia castellanii* S. Re 1925 (*Jl of trop. med. and hyg.*, XXVIII, 1925, p. 317). — Ce champignon, isolé de cas de furonculose par Castellani, a d'abord été signalé par cet auteur en 1924 (*Jl of trop. med. and hyg.*, XXVII, 1924, p. 326) sous le nom de *Cryptococcus* sp., puis a reçu de S. Re le nom spécifique *M. castellanii* l'année suivante (1925). Castellani en a repris l'étude avec Jacono en 1933, sous le nom de *Torulopsis castellanii* Castellani et Jacono. Dans toutes ces descriptions, le pigment rouge est mentionné (cf. Re 1925 ; Castellani et Jacono 1933, pp. 312-313, pour le pigment et fig. 38 A pour les grandes cellules à inclusions lipidiques).

(1) *Torulopsis pulcherrima* est une *levure banale* des fleurs et des fruits. Beijerinck l'a trouvée sur les raisins, dans le miel (surtout le miel de bruyère), le nectar des fleurs (notamment des labiées du genre *Lamium*, la poussière obtenue en polissant les grains de malt, le jabot des bourdons, etc., etc. (*Folia microbiologica*, I, 1912, p. 75).

Nous avons étudié trois souches de *Monilia castellanii*, provenant toutes trois du laboratoire de Castellani. Ce sont nos souches 672 A, arrivée du Ross Institute en mars 1931 ; 785 B, reçue fin décembre 1937 et 965 B, du 15 avril 1939. Toutes trois ont été entretenues sur gélose peptonée à 1 p. 100 et glycosée à 2 p. 100 et ont toujours donné la pigmentation rouge et les grosses cellules graisseuses caractéristiques (fig. 12, pl. V).

Monilia (ou *Torulopsis*) *castellanii* Re 1925 est donc en réalité *Torulopsis pulcherrima* (Lindner 1887) Saccardo, levure très banale et sans pouvoir pathogène. La dénomination de Re doit donc tomber en synonymie et disparaître de la nomenclature des champignons parasites de l'homme.

Ce qui vient compliquer la question, c'est qu'une autre souche très différente a été nommée par Redaelli *Cryptococcus castellanii*. Cette souche, envoyée par Castellani en 1926 au Bureau Central de Baarn, a été étudiée par Mlle Lodder (1934, p. 40). Elle est toute différente du vrai *castellanii* et a donné sur carotte et sur milieu de Gorodkowa des ascospores du type *Debaryomyces* : elle s'est trouvée identique au *D. matruchoti* Grigoraki et Péju 1921, levure très banale, non pathogène et ne sécrétant pas de pigment rouge.

2. *Cryptococcus interdigitalis* Pollacci et Nannizzi 1926. — La souche étudiée par Mlle Lodder (1934, pp. 144-146) s'est trouvée à peu près identique à *Torulopsis pulcherrima* (Lindner), avec quelques différences dans la croissance en moût de bière, suffisantes pour justifier la création d'une variété *variabilis* Lodder 1934.

Il faut noter que la souche étudiée ne provenait pas directement des auteurs de l'espèce, mais avait été expédiée par le laboratoire Benedek.

Toutefois, dans la description originale de Pollacci et Nannizzi (*I miceti patogeni*, V, n° 44, 1926), il est expressément fait mention des grosses cellules à paroi épaisse, avec grande gouttelette graisseuse. Nous-mêmes avons retrouvé ces cellules, absolument typiques comme forme et dimensions, dans la préparation originale de Pollacci et Nannizzi que possède l'Institut de parasitologie de la Faculté de médecine de Paris et qui fait partie de la collection type de cent préparations vendues avec les exemplaires de *I miceti patogeni*. Ces cellules y sont peu nombreuses, parmi une grande quantité de petites levures ovalaires de 2 μ 5 à 3 μ.

Il n'y a donc aucun doute sur l'identité réelle du *Cryptococcus interdigitalis* : cette espèce doit tomber en synonymie avec *Torulopsis pulcherrima* et disparaître de la mycologie médicale.

3. La mycothèque de l'Institut de parasitologie possède une 4e sou-

che d'origine humaine (n° 620 B) de *Torulopsis pulcherrima*, envoyée en janvier 1937 par le docteur F. Zach, sous le nom de *Eutorulopsis* Lunge (= des poumons) la Zach 1930, en provenance de la Clinique universitaire pour la syphilologie et la dermatologie à Vienne. Cette souche est aussi typique que les précédentes et présente tous les caractères macroscopiques et microscopiques du *T. pulcherrima* (fig. 8 et 10, pl. V). Le malade, des poumons duquel elle a été isolée, est mort d'une blastomycose vraie à *Torulopsis neoformans* : *T. pulcherrima* était donc, dans ce cas, un saprophyte banal.

II. — Secteurs des colonies de levures ascosporées.

Jusqu'ici, c'est surtout dans le genre *Debaryomyces* que nous avons observé la production très apparente de secteurs clairs ou sombres. Nous en avons rencontré aussi dans des colonies d'*Hansenula anomala* (souche 581, collection Guilliermond) et de *Zygopichia chevalieri* (souche 617 A, collection Guilliermond).

A. — Secteurs chez les Debaryomyces

Dans les descriptions des ouvrages classiques, il n'est fait mention que des éléments levuriformes et des asques monospores avec becs de copulation. Pourtant les *Debaryomyces* produisent une filamentisation exactement comme les Mycotoruloïdées. Cette filamentisation est très facile à observer, soit autour des colonies géantes en tubes de gélose glycosée inclinée, soit dans les colonies développées sur lames.

Le *pseudomycelium* est toujours formé de *blastospores* comme chez les *Candida* : ces blastospores naissent normalement, à l'apex des articles du pseudomycélium, mais elles restent isolées ou forment seulement des chaînettes, sans constituer les verticilles et les glomérules si caractéristiques des *Candida* (pl. IX, fig. 1-4). On obtient donc une *ramification buissonnante et très touffue* par suite de l'accumulation des blastospores qui se détachent et s'entassent autour des filaments. Les fig. 3, pl. VI, 3, pl. VII, 3, pl. VIII et 1 à 4, pl. IX donnent une bonne idée de cette filamentisation très caractéristique, qu'on peut déjà reconnaître en examinant les tubes par transparence, même si les colonies sont sèches (fig. 3, pl. VII). Outre les blastospores, il se forme aussi une quantité plus ou moins grande de *pseudoconidies* de forme variable, arrondies, allongées ou stalagmoïdes, qui contribuent à donner à la filamentisation son aspect touffu et tourmenté caractéristique.

Nous avons pris, comme exemples de cette filamentisation,

D. matruchoti, souche 514 A (souche du C. B. S. de Baarn) ; *D. klöckeri*, souche 574 A (= *Debaryomyces B* de Guilliermond et Cesari) ; *D. guilliermondi*, souche 550 (= *Debaryomyces K* de Guilliermond et Cesari) ; *Debaryomyces*, souche 518 B (souche Novoty, érosion interdigitale du pied).

Les colonies à secteurs sont fréquentes et très nettes chez les *Debaryomyces*. Nous donnons comme exemples (fig. 2-6, 9, 11, pl. V) *D. hudeloi*, souche 599 A, collection Guilliermond (= *Atelosaccharomyces hudeloi* de Beurmann et Gougerot 1910, Dekker *emend.*) (fig. 3 et 4, pl. V), puis une série de *Debaryomyces* dont nous n'avons pas encore fait la détermination spécifique : *souche Colzol n° 417 B* (fig. 6 et 11, pl. V), provenant de la bouche d'un individu sain servant de témoin (cette souche donne des secteurs blancs particulièrement nets) ; *souche Néret 453 B* (fig. 5, pl. V), isolée d'un onyxis (grands secteurs blancs en relief) ; *souche Guelaire 425 B* (fig. 9, pl. V), à grands secteurs sombres, isolée d'un perionyxis typique après guérison ; *souche Labretonnière 552 B* (fig. 2, pl. V), isolée d'une lésion trichophytique, donnant aussi de grands secteurs sombres.

Notons en passant que tous ces *Debaryomyces* sont des saprophytes de la peau ou des muqueuses et que leur rôle pathogène est des plus douteux.

B. — Secteurs chez d'autres levures ascosporées

Nous avons observé des colonies à secteurs sombres chez *Saccharomyces pastorianus* (souche 540 A, collection Guilliermond, colonie de 7 mois 1/2) ; *Hansenula anomala* (souche 581 A, provenant de la collection Guilliermond) (fig. 1, pl. V) et à secteurs blancs chez *Zygopichia* (*Zygosaccharomyces*) *chevalieri* (souche 617 A, provenant de la collection Guilliermond). Cette dernière souche est très intéressante parce qu'outre les secteurs, elle présente une alternance très nette des phases S et R ; la colonie que nous représentons (fig. 7, pl. V) a 15 jours ; elle provient d'une colonie du type S de 18 jours, ensemencée en partant d'une colonie du type R très accentué de 3 mois 1/2, issue elle-même d'une colonie S de 4 mois.

III. — Secteurs et colonies des phases R et S

Le cas du *Zygopichia chevalieri* nous amène à examiner les rapports possibles entre secteurs et phases R et S.

Dans un précédent mémoire (1939-1940), nous avons montré que

ces phases correspondent à des variations dans la filamentisation. Tous les observateurs sont d'accord pour admettre que les colonies R sont membraneuses, par conséquent filamenteuses (pseudomycélium à articles allongés). Nous avons été plus loin dans l'analyse du phénomène et nous avons montré que la filamentisation normale des champignons levuriformes s'accompagnait de deux autres types : d'une part de très longs filaments non cloisonnés, produits par les blastospores suivant un processus très spécial, auquel nous avons donné le nom de *blastèse*; d'autre part des chaînettes de pseudoconidies très développées chez certaines espèces telles que *Candida tropicalis*.

L'étude de colonies développées sur lames gélosées nous a permis de suivre ces phénomènes en employant des souches où ils sont particulièrement nets. Nous sommes arrivés à saisir le début de la phase R à partir d'une seule cellule de la phase S. Nous pensons avoir démontré que, chez les levures, l'alternance de ces deux phases est un processus normal, dont nous avons étudié les facteurs morphogénétiques, et non une dissociation irréversible. De grandes analogies nous portent à croire que ces conclusions peuvent être appliquées aux colonies R et S des bactéries et notamment à celles du bacille tuberculeux.

L'apparition de secteurs clairs ou sombres sur les colonies de levures et de champignons levuriformes nous paraît être un phénomène de même ordre, produit par des modalités de la filamentisation. La chose est très nette chez *Candida parakrusei*, dont les secteurs sont constitués par des filaments formés de blastospores géantes qui apparaissent parmi les filaments normaux. La question d'un mélange de souches ne peut être soulevée, car on voit ces blastospores géantes naître brusquement dans la continuité d'un filament normal à petites blastospores et, inversement, des verticilles de petites blastospores sortir de rameaux à grosses blastospores.

Chez *Candida albicans*, la figure 1, pl. VI, montre la tendance à l'allongement que présentent les éléments des secteurs sombres, contrastant avec les petits éléments arrondis des colonies normales (fig. 2, pl. VI). Des phénomènes analogues sont très nettement représentés par les figures 4-6, pl. VI, dans lesquelles on voit la tendance à l'allongement et à la filamentisation des cellules qui constituent les premières ébauches des secteurs sombres.

En dehors des *Candida*, toutes les colonies à secteurs que nous avons rencontrées chez des Torulopsoïdées ou chez des levures ascosporées (*Debaryomyces*) appartiennent à des espèces qui filamentent. Cette filamentisation ne semble pas avoir été remarquée ni figurée, c'est pourquoi nous l'avons décrite et figurée chez *Torulopsis pulcherrima* et chez les *Debaryomyces*. Il s'agit d'ailleurs toujours d'un

pseudomycélium formé de blastospores articulées bout à bout et ayant subi un allongement plus ou moins prononcé.

Résumé

On remarque fréquemment, à la surface des colonies de champignons levuriformes, des secteurs clairs ou foncés. Ces secteurs ne semblent pas avoir encore fait l'objet d'une étude d'ensemble. Nous les avons observés chez sept espèces de *Candida*, un *Rhodotorula*, quatre *Torulopsis* (parmi lesquels *T. pulcherrima* est le plus remarquable), un *Hansenula*, un *Zygopichia*, un *Saccharomyces* et cinq *Debaryomyces*. A ce propos, nous décrivons la filamentisation des *Debaryomyces* qui semble avoir passé inaperçue, ainsi que celle de *T. pulcherrima*. Nous concluons en établissant un rapprochement entre l'apparition des secteurs et celle des phases R et S, dont nous avons donné une étude critique dans un précédent mémoire. Dans l'un et l'autre cas, il s'agit d'un phénomène de filamentisation, lui-même sous la dépendance de facteurs morphogénétiques que nous avons étudiés. En outre, dans les deux cas, ce phénomène est réversible, le retour au type normal étant à la fois spontané et facilement réalisable. Il importait de faire connaître l'existence et la signification de ces secteurs, pour mettre en garde contre la création d'espèces nouvelles, basées sur ces variations morphologiques.

Bibliographie

Beijerinck (M. W.). — Levures chromogènes. Nouvelle réaction biologique du fer. *Arch. néerlandaises de physiol. homme et animaux*, II, 1918, pp. 609-615. Voir aussi : *Folia microbiologica*, I, 1912, p. 75.

Castellani (A.) et Jacono (I.). — Observations on fungi isolated from cases of blastomycosis cutis and blastomycosis pulmonalis in North America and Europe. Remarks on blastomycetin. *Jl. of trop. med. and hyg.*, XXXVI, 1933, pp. 297-321 ; cf. pp. 312-313 *Torulopsis castellanii* (Re 1925).

Henrici (A. T.). — *Molds, yeasts and actinomycetes*. John Wiley and Sons, New-York, 1930 ; cf. p. 205.

Langeron (M.) et Guerra (P.). — Nouvelles recherches de zymologie médicale. *Ann. de paras.*, XVI, 1938, pp. 36-84, 162-179, 429-476, 481-525, pl. XII-XXXIII.

— Remarques sur le *Candida stellatoidea* (Jones et Martin 1938). *Ann. de paras.*, XVII, 1939-1940, pp. 257-260, pl. XVIII.

— Valeur et nature des variations et dissociations de colonies chez les champignons levuriformes. *Ann. de paras.*, XVII, 1939-1940, pp. 447-469, pl. XXX-XXXII.

— Orientation de la filamentisation des champignons levuriformes cultivés sur lames gélosées. *Ann. de paras.*, XVII, 1939-1940, pp. 580-589.

EXPLICATION DES PLANCHES IV-IX

Planche IV

Secteurs des colonies de levures anascosporées (1).

Fig. 1. — Colonies à secteurs de *Candida albicans*, souche 587 B (*Blastodendrion oosporoides* Zach 1933), 1936.

Fig. 2. — Colonies à secteurs de *Candida albicans*, souche 391 A, collection Sabouraud (oïdiomycose, cas Lacloche).

Fig. 3. — Colonies à secteurs de *Candida albicans*, souche 646 B, provenant d'un ulcus de l'estomac, 1937.

Fig. 4. — Colonie à secteurs pétaloïdes de *Candida guilliermondi*, souche 782 B, souche du Dr Rivalier, Hôp. Saint-Louis, onychomycose cas Picard, décembre 1937.

Fig. 5. — Colonies à petits secteurs de *Candida parakrusei*, souche 432 B, hyperkératose plantaire, souche Guerra, Hôp. Saint-Louis, cas Canina, 1934.

Fig. 6. — Colonie à secteurs sombres de *Candida pseudotropicalis*, souche 496 B, cas de sprue du Dr Grigaut, 1935.

Fig. 7. — Colonie à secteurs sombres du *Candida flareri*, souche 583 B, souche originale de Redaelli, 1936.

Fig. 8. — Colonie à grands secteurs sombres de *Candida triadis*, souche 795 B, levure de crachats, souche du Dr Peyre, cas Brégier, 1938.

Fig. 9, 12, 13, 17. — Filamentisation de *Torulopsis pulcherrima*, souche 886, C.B.S., Delft, 1937. Culture de 4 jours sur gélose glycosée à 2 p. 100. Encre de Chine.

Fig. 10. — Colonie à secteurs de *Candida triadis*, souche 753 B (souche norvégienne 270 *a* du Dr E. Aaser), 1937. Colonie de 40 jours.

Fig. 11. — Colonie à secteurs de *Candida triadis*, souche 663 B *bis*, cas du Dr Douvier, crachats, 1938. Colonie de 102 jours.

Fig. 14. — Colonies à secteurs rouges de *Torulopsis pulcherrima*, souche 965 BB, souche de Castellani, 1939 (*Torulopsis* (*Cryptococcus*) *castellanii*). Colonies de 48 jours.

Fig. 15. — Colonie à secteurs sombres de *Candida albicans*, souche 308 B, souche Milochevitch, 1933. Colonie à sec.

Fig. 16. — Colonie à secteurs de *Candida triadis*, souche 948 BB, poulet 95 V du Dr Ch. Henry. Masse caséeuse péritonéale avec *Aspergillus fumigatus*.

Planche V

Secteurs des colonies de levures ascosporées.

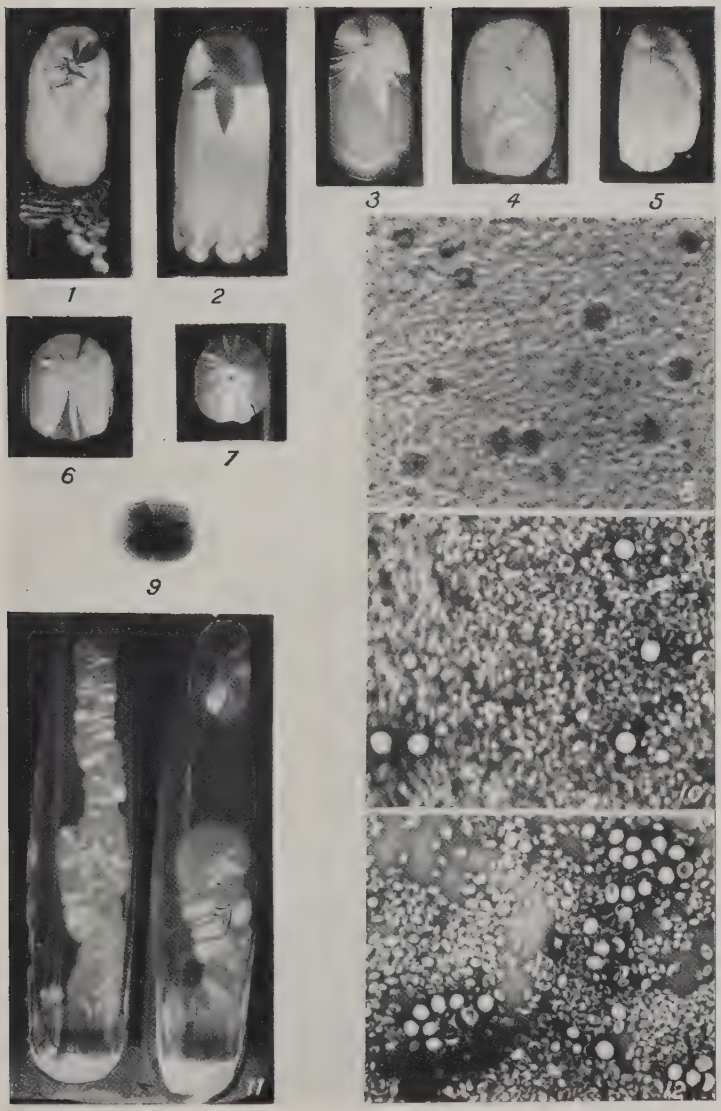
Fig. 1. — Colonie à secteurs sombres d'*Hansenula anomala*, souche 581 A (collection Guilliermond), 1930.

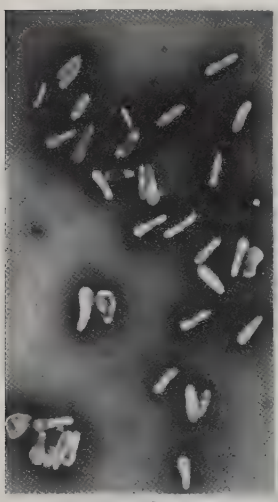
Fig. 2. — Colonie à secteurs sombres du *Debaromyces* 552 A (*Debaromyces* Bm de Cesari et Guilliermond), 1930.

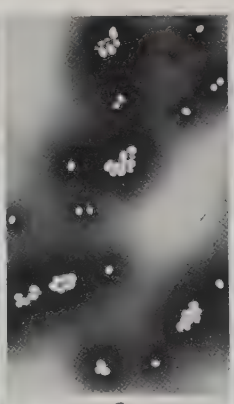
Fig. 3 et 4. — Colonies à secteurs blancs de *Debaryomyces hudeloi*, souche 599 A (collection Guilliermond), 1930. La colonie de la figure 3 est âgée de 95 jours.

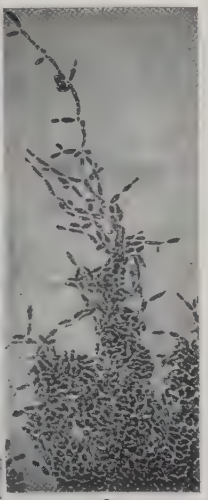
(1) Toutes les photographies de colonies à secteurs sont en grandeur naturelle.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17


1
2
3
4
5
6
7
9
10
11
12

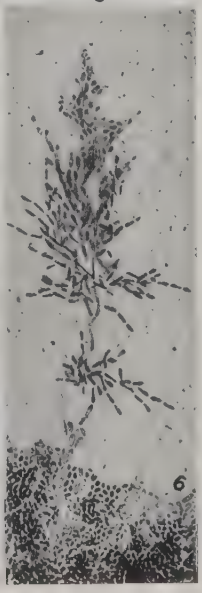

1


2


3

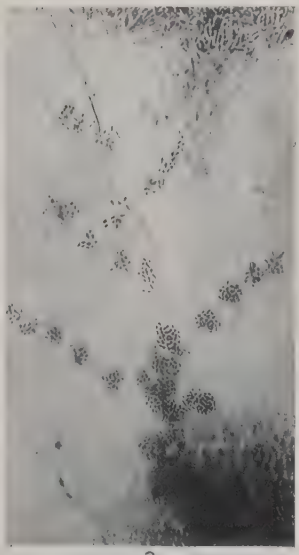
4

5


6

Masson et Cie, Éditeurs

1



2

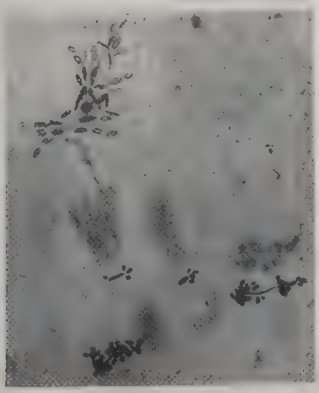
3

4

1

2

3



4

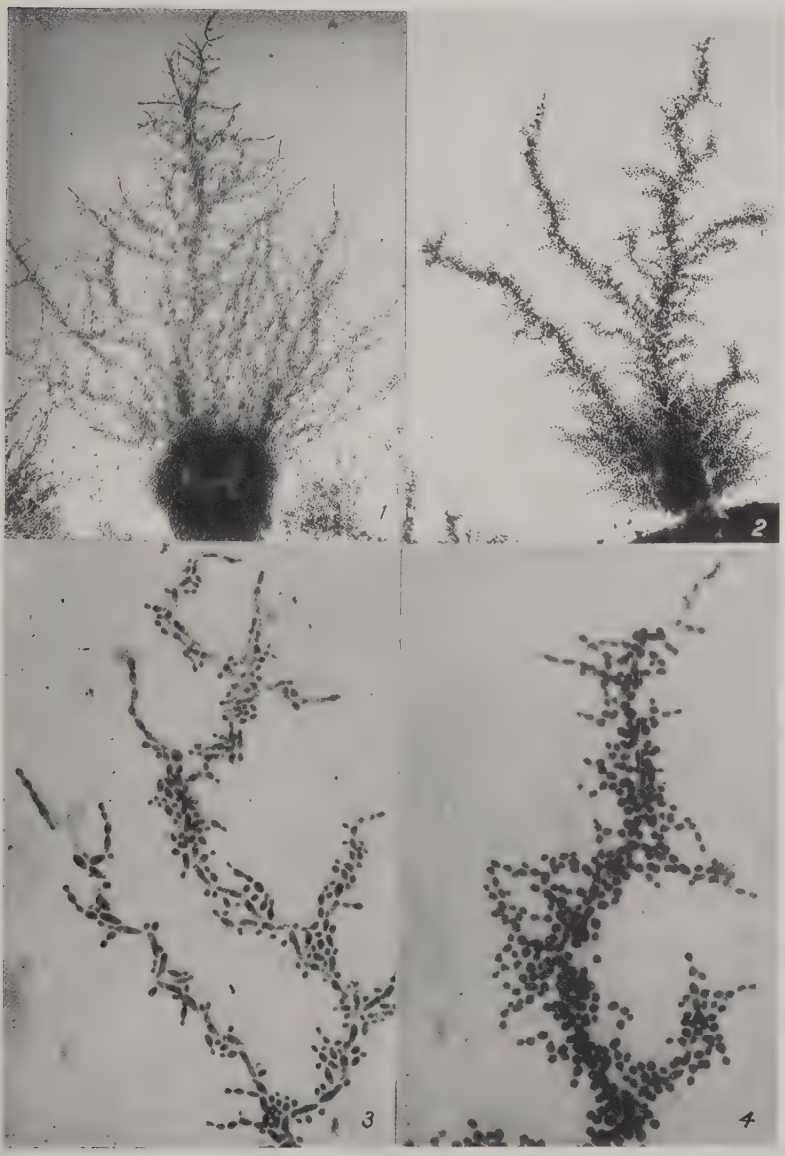

1
2
3
4

Fig. 5. — Colonie à secteurs du *Debaryomyces* n° 435 B (souche Guerra, Hôp. Saint-Louis, onychomycose, cas Néret), 1934.

Fig. 6 et 11. — Colonies à secteurs clairs et sombres du *Debaromyces* 417 B (souche Guerra, Hôp. Saint-Louis, cas Colzol, levure de la bouche), 1934.

Fig. 7. — Colonie à secteurs de *Zygopichia chevalieri*, âgée de 15 jours, souche 617 A (collection Guilliermond), 1930.

Fig. 8, 10, 12. — Blastospores et chlamydospores (levures à graisse de Beijerinck) de *Torulopsis pulcherrima* : fig. 12, souche 672 A (*Cryptococcus castellanii* Re 1925), souche Castellani du Ross Institute and Hospital, 1931, encre de Chine; fig. 10, souche 620 B (*Eutorulopsis* Ia du Dr Zach, Vienne), 1937; encre de Chine; fig. 8, même souche 620 B, bleu au lactophénol Soudan.

Fig. 9. — Colonie à secteurs sombres (colonie à sec) du *Debaromyces* 425 B (souche Guerra, Hôp. Saint-Louis, 1934, cas Guelaire).

Planche VI

Dimorphisme des éléments des secteurs des colonies de levures.

Fig. 1. — Éléments d'un secteur sombre d'une colonie de *Candida albicans*, souche *ovalis* 296 A. Grandes cellules allongées ou en bouteille, avec col ou bec. Culture de 15 jours sur gélose glycosée à 2 p. 100. Encre de Chine.

Fig. 2. — Éléments de la partie blanche, crémeuse, normale, de la même colonie. Culture de 6 jours sur gélose glycosée à 2 p. 100. Encre de Chine.

Fig. 3. — Filamentisation d'un *Debaryomyces*, souche 518 B (souche Guerra, cas Novoti, érosion digitale du pied). Culture sur lame gélosée.

Fig. 4 et 6. — Origine des secteurs sombres des colonies du *Candida albicans*, souche 391 A (collection Sabouraud, oïdiomycose, cas Lacloche); éléments pris dans une culture en strie sur lame gélosée, faite en partant d'une colonie purifiée par culture monocellulaire de la variante sombre. La strie est constituée par un mélange des deux types de blastospores : les deux rameaux partent chacun d'une grande cellule du type sombre.

Fig. 5. — Origine de la variante sombre décelée dans une strie sur lame gélosée faite avec un secteur sombre avant isolement par culture monocellulaire. *Candida albicans*, souche n° 587 B (*Blastodendrion oosporoides* Zach 1933). La zone filamenteuse, à cellules allongées, est l'origine d'un secteur sombre; elle plonge ses racines dans la partie blanche, formée de petites cellules arrondies.

Planche VII

Dimorphisme des éléments des secteurs des colonies de levures.

Fig. 1. — Coexistence de la variante sombre à grands éléments allongés (angle inférieur gauche) et de la forme normale blanche à petits éléments arrondis, donnant une colonie isolée typique avec chlamydospores : *Candida albicans*, souche *ovalis* 296 A. Culture sur lame gélosée, colonie de 5 jours sur milieu PC (1).

(1) Le milieu PC est notre gélose à la pulpe de pomme de terre et de carotte (Langeron et Guerra, 1938, p. 68).

Fig. 2. — Même souche. Culture de 24 heures sur lame gélosée, milieu PC, de la variante sombre pure, dont on voit les grands éléments allongés en bas et en haut de la figure (remarquer en haut, à droite, une cellule en bouteille, isolée). Au milieu, un rameau très typique de la forme normale blanche, avec verticilles globuleux de petites blastospores.

Fig. 3. — Aspect typique de la filamentisation des *Debaryomyces* : bord desséché d'une colonie en tube de *D. matruchoti*, souche 514 A, C.B.S., Delft, 1930.

Fig. 4. — Verticilles normaux et verticilles à blastospores baculiformes coexistant sur le même rameau : *Candida triadis*, souche type 587 A. Culture de 5 jours sur lame gélosée, milieu de Gorodkova.

Planche VIII

Dimorphisme des éléments des secteurs des colonies de levures.

Fig. 1 et 2. — Coexistence de blastospores géantes et de blastospores normales dans une culture sur lame de 6 jours sur gélose glycosée à 2 p. 100 : *Candida parakrusei*, souche Ashford 341 A, 1928. Ces blastospores géantes sont les éléments des secteurs jaunes marginaux (fig. 5, pl. IV).

Fig. 3. — Filamentisation du type *Mycocandida* chez un *Debaryomyces*, souche 518 B (voir un autre point de la même lame, fig. 3, pl. VI).

Fig. 4. — Coexistence, sur le même filament, de verticilles de la variante sombre à grandes blastospores et de petits verticilles de la forme normale blanche : *Candida albicans*, souche *ovalis* 296 A. Culture de la variante sombre pure sur lame gélosée, colonie de 5 jours sur milieu PC.

Planche IX

Filamentisation des Debaryomyces.

Voir aussi pl. VI, fig. 3, pl. VII, fig. 3 et pl. VIII, fig. 3.

Fig. 1. — Microcolonie, sur lame gélosée, de *Debaryomyces matruchoti*, souche 514 A, C.B.S., Delft.

Fig. 2. — Microcolonie, sur lame gélosée, de *Debaryomyces guilliermondi*, souche 550 A (*Debaryomyces* K de Cesari et Guilliermond) (collection Guilliermond).

Fig. 3. — Éléments des filaments du *Debaryomyces klöckeri*, souche 574 A (*Debaryomyces* B de Cesari et Guilliermond) (collection Guilliermond). Culture en strie sur lame gélosée.

Fig. 4. — Éléments des filaments du *Debaryomyces guilliermondi*, souche 550 A (partie de la fig. 2).

Lodder (J.). — Die anaskosporogenen Hefen. *Die Hefesammlung des « Centraalbureau voor Schimmelcultures ». Beiträge zu einer Monographie der Hefearten.* II Teil. Erste Hälfte. Thèse Fac. Sc. Utrecht, 1934, 256 p.

Punkari (L.) et Henrici (A. T.). — A study of variation in a chromogenic asporogenous yeast. *Jl. of bacteriol.*, XXVI, 1933, pp. 125-138.

— Further studies on spontaneous variation of *Torula pulcherrima*. *Jl. of bacteriol.*, XXIX, 1935, pp. 259-267.

Re (S.). — Observations on the cultural and biochemical characters of *Monilia castellanii* (*Cryptococcus castellanii*) and *Monilia macroglossiae* (*Cryptococcus macroglossiae*). *Jl. of trop. med. and hyg.*, XXVIII, 1925, pp. 317-319.

Urbach (E.) et Zach (F.). — Generalisierte Torulose (europäische Blastomykose). Eine klinisch-botanische Studie. *Arch. f. Dermat. u. Syphil.*, CLXII, 1930-1931, pp. 401-421.

Institut de parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris
et station expérimentale de Richelieu (Directeur : Prof. E. Brumpt).
Section de mycologie (Chef de service : Dr Maurice Langeron).

LES ENTOMOPHTHORÉES PARASITES DES MOUSTIQUES

ÉTUDE CRITIQUE. RECHERCHES PERSONNELLES

Par E. BRUMPT

Afin d'étudier les conditions qui favorisent la ponte des moustiques et de capturer des femelles gravides en vue d'observer le mécanisme du dépôt de leurs œufs, nous avions disposé, à la Station expérimentale de Richelieu (Indre-et-Loire), un certain nombre de cuves de verre, de bocaux et de cristallisoirs renfermant des macérations de

FIG. 1. — Moustique (*Theobaldia annulata*) présentant une infection spontanée par le champignon *Empusa conglomerata* ayant envahi en partie la surface des téguments en moins de 8 heures. D'après E. Brumpt, 1940.

ANNALES DE PARASITOLOGIE, T. XVIII, N^os 1-2-3. — 1941, p. 112-144.

feuilles, de foin, de crottin, de déjections humaines, ainsi que de l'eau pure ou rendue toxique par l'arsénite de soude. Ces gîtes artificiels placés, les uns dans la cour du laboratoire, les autres sous des arbustes bordant un massif boisé, étaient examinés trois fois par jour : au crépuscule, puis une heure ou deux plus tard, enfin le lendemain matin vers 9 heures (1).

A partir du 20 août, quelques moustiques morts se trouvaient sur l'eau et le 29 du même mois, ayant constaté que ces insectes étaient tués par une *Empusa*, nous les avons récoltés régulièrement. Du 29 août au 30 septembre 1940, nous avons recueilli ainsi 105 *Culex pipiens* (2) infectés, dont 101 femelles et 4 mâles ; et une femelle de *Theobaldia annulata* également parasitée (fig. 1).

Tous les moustiques étudiés ont présenté la même espèce d'*Empusa* à l'état de pureté, sauf chez deux d'entre eux chez lesquels un autre champignon, peut-être saprophyte, lui était associé.

I. — ÉTUDE MORPHOLOGIQUE ET BIOLOGIQUE DE L'*EMPUSA* DE *CULEX PIPIENS* ET DE *THEOBALDIA ANNULATA*

Nous ignorons totalement le mode de pénétration du champignon chez les moustiques, ainsi que ses premiers aspects morphologiques, mais nous pouvons affirmer que son développement est rapide. Chez tous les moustiques que nous avons disséqués nous avons trouvé en abondance des filaments simples, plus ou moins rectilignes (F., fig. 2), donnant naissance aux conidiophores et issus d'une masse mycélienne petite et irrégulière, qui se vide de son contenu au cours de la formation de la conidie (4 et 5, fig. 3).

Ces fragments de mycélium qui renferment de nombreux noyaux, comme il est facile de le voir sur les coupes de moustiques, donnent naissance aux conidiophores que le besoin d'oxygène dirige probablement vers les espaces intersegmentaires et les points d'articulation des

(1) Heure allemande d'été, en avance de deux heures sur le temps solaire.

(2) Le *Culex pipiens* que nous avons étudié à la Station expérimentale de Richelieu ne semble pas piquer l'homme et il ne peut pondre qu'après s'être gorgé de sang sur divers animaux, les oiseaux en particulier. Tous nos essais portant sur plus d'un millier d'adultes ont établi que l'autogenèse n'existe pas chez lui. Il s'agit donc du type rural de Roubaud. Cependant, il en diffère, car il peut se reproduire dans de petites cages cubiques de 30 cm. de côté. Comme certains Culicidés dont l'accouplement se fait dans la nature au moment du vol nuptial, l'espèce de *C. pipiens* de Richelieu s'adapte à une évolution dans un milieu restreint où ce vol est impossible.

diverses parties du corps des insectes, qu'ils perforent pour produire à l'air libre des conidies primaires (fig. 2, 7 et 8).

Dans des conditions physico-chimiques particulières (1) que nous ne saurions préciser, ces fragments mycéliens donnent naissance à l'intérieur du corps des moustiques, par simple bourgeonnement et sans qu'aucun phénomène de fécondation se produise, aux œufs ; ces œufs sont donc des azygospores qu'il vaudrait peut-être mieux nommer pseudo-zygospores ou encore chlamydospores (fig. 3, 4, 7, 12).

Fig. 2. — *Entomophthora conglomerata.* — Deux groupes de conidies (G) sortant des espaces intercannulaires de l'abdomen du *Culex pipiens* 117/XXX ; F, filaments produisant les conidiophores.

Sur 10 *Culex pipiens*, étudiés sur coupes, sur pièces dilacérées, ou montés (2) nous avons observé les azygospores dans quatre cas seulement. Or tous ces moustiques étaient récoltés dans des conditions à peu près identiques, sur nos pondoirs artificiels et ils présentaient également des faisceaux de conidiospores mûres. Dans un cas (107/XXIX), chez un exemplaire ayant séjourné deux ou trois jours sur l'eau, l'abdomen, le thorax et la tête, étaient entièrement remplis d'azygospores (fig. 4) et les filaments mycéliens étaient rares ; dans un autre cas (1/XXX, *a*), les zygospores étaient assez rares dans

(1) Les facteurs déterminant la formation des œufs des champignons sont multiples. Les facteurs mécaniques, l'action de la température, le refroidissement brusque, l'action des vapeurs de chloroforme, la composition chimique du milieu, l'action de germes associés, ont été étudiés par de nombreux auteurs. En ce qui concerne les entomophthorées, Molliard (1918), puis Sawyer (1929) ont fait des observations intéressantes sur ce sujet.

(2) Une excellente technique pour l'étude des moustiques entiers est de les examiner dans le chloral-lactophénol de Amann, puis, si l'on désire les conserver, les monter définitivement dans la gomme au chloral (voir Langeron, *Précis de microscopie*, 6e édition, 1941).

le corps et le mycélium était en grande partie résorbé, sauf celui portant les conidiophores (fig. 7).

Les conidies primaires (fig. 5) prennent naissance à l'extrémité d'un filament renflé. Quand la spore est développée, elle est séparée du gros renflement du conidiophore par une cloison située au niveau d'un étranglement. Quand la conidie est mûre, elle est projetée, comme chez la plupart des autres entomophthorées, par la pression exercée

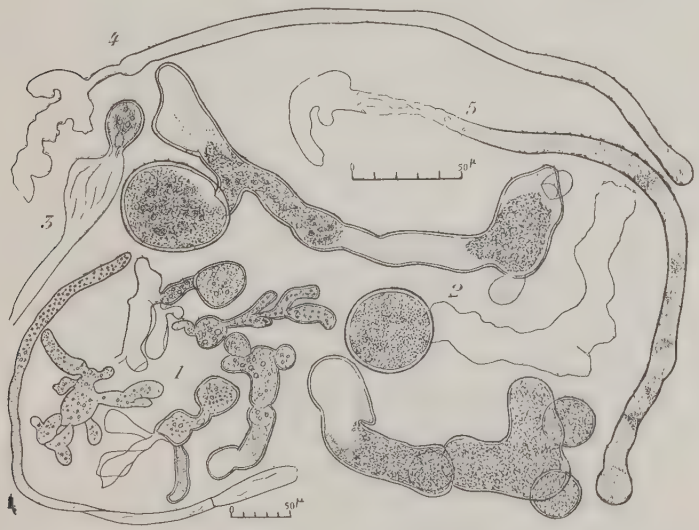


Fig. 3. — *Entomophthora conglomerata*. — 1, *Culex* 107 et 119/XXX. Fragments mycéliens donnant naissance, soit à des conidiophores comme en 4 et 5, soit à des azygospores comme en 2.

sur elle par le liquide vacuolaire du renflement sous-jacent. Dans le cas de l'*Empusa* étudiée ici, il ne semble pas que la masse protoplasmique du conidiophore s'accole à la conidie projetée comme cela se voit chez *Empusa muscæ* et chez *E. culicis* par exemple. La distance à laquelle les conidies primaires sont projetées est assez grande ; elle peut être facilement mesurée, soit en plaçant sur l'eau un *Culex* parasité au milieu d'un petit cristallisoir, soit en mettant l'insecte sur une lame de verre. On peut alors constater que certaines spores sont lancées à 10, 12 et même à 16 millimètres.

Les conidies primaires germent très facilement sur des lames de

verre, maintenues dans une atmosphère très humide. Elles donnent généralement un filament (A, A', fig. 6) qui vide la spore et qui, au cours de son accroissement, se sépare de la partie vidée par une série de

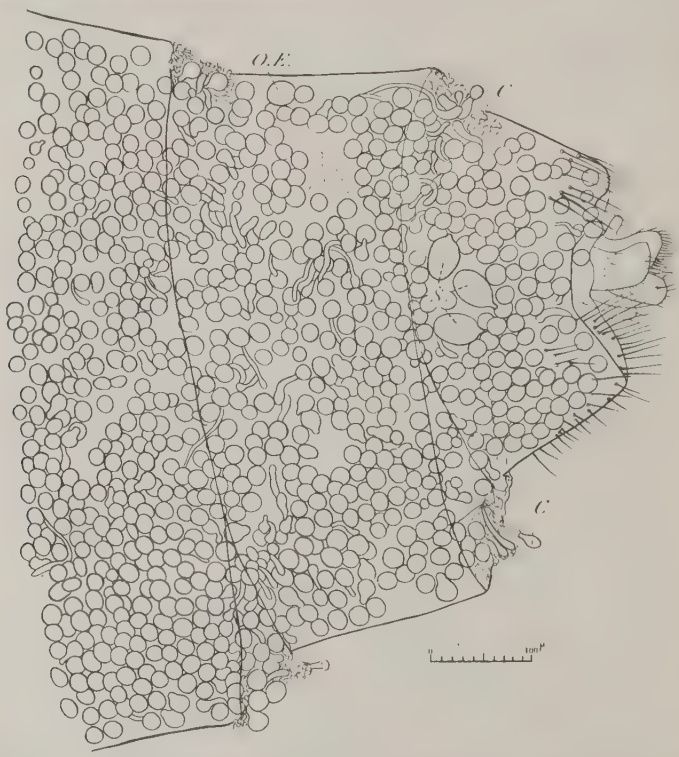


Fig. 4. — *Entomophthora conglomerata*. — Extrémité postérieure de l'abdomen du *Culex* femelle 107/XXX entièrement rempli d'azygospores (OE) et présentant encore quelques conidies primaires (C) ; S, spermathèques.

cloisons successives. Dans quelques cas très rares, nous avons observé la formation de conidies secondaires (1).

Les filaments issus des conidies primaires présentent un phototropisme fortement positif.

(1) Dans le cas d'*Entomophthora grylli*, Von Tubeuf (1893), cité par Gueguen (1904), a vu se produire successivement des conidies secondaires, tertiaires et quaternaires, etc., de plus en plus petites.

L'habitat de notre champignon est plus ou moins étendu dans le corps du moustique infecté. A part une exception d'infection thoracique pure, tous les insectes étudiés présentaient une infection totale et un nombre incalculable de conidiophores sortant par les points du corps offrant le moins de résistance à la sortie du champignon. Les azygospores, quand elles existent, se rencontrent également dans tout le corps du moustique, sauf dans les pattes.

Dans deux cas, nous avons observé en même temps que les éléments parasitaires normaux, une prolifération de filaments sortant par les espaces intersegmentaires et appartenant à un champignon non sporulé d'une autre espèce peut-être non parasite.

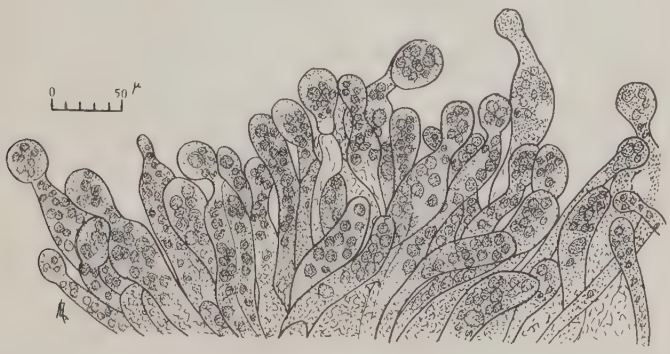


Fig. 5. — *Entomophthora conglomerata.* — Groupe de conidiophores et de conidies primaires faisant saillie entre deux anneaux abdominaux d'un *Culex.*

La croissance de l'*Empusa* des moustiques est très rapide, car tous les moustiques que nous avons trouvés sur nos gîtes de ponte où nous les récoltions chaque jour, étaient morts depuis quelques heures et avaient dû voler pour s'y rendre. Or, au moment de leur récolte, l'envahissement total et parfois la destruction de leurs muscles alaires établissaient l'importance des lésions que peuvent faire les *Empusa* en quelques heures. D'autre part, un *Culex pipiens* femelle (592/XXIX), venant pour pondre sur un gîte et capturé le 6 septembre à 21 heures, est trouvé mort le lendemain matin avec un développement intersegmentaire très discret d'*Empusa*; vingt-quatre heures plus tard, le corps était totalement envahi par les conidiophores. Nous avons observé plusieurs fois ce fait chez *C. pipiens* et une fois chez *Theobaldia annulata.* Ce dernier insecte, trouvé mort le 21 septembre à

Fig. 6. — *Entomophthora conglomerata.* — 1, ensemble de conidies primaires normales ou en voie de germination; 2, filaments produits sur lame par la germination de conidies primaires; A' suite du filament A.

9 heures du matin, sur l'eau d'un gîte artificiel, montrait une infection très faible de la région dorsale de l'abdomen, visible à la loupe binoculaire seulement, laissant la tête et le thorax indemnes. Or, à 15 heures, tout le corps était envahi et le dessin (fig. 1) exécuté à 17 heures par notre distingué collaborateur C. Desportes montre l'intensité de l'infection.

Rôle pathogène.

Tous les animaux que nous avons étudiés avaient été tués par les *Empusa* ; cependant, bien que cela soit peu probable, on peut admettre que certains spécimens résistent et demeurent porteurs de germes (1).

Il est important de connaître la morbidité générale des moustiques déterminée par les champignons. Signalons toutefois, avant d'étudier le pourcentage d'insectes atteints, que malgré nos recherches dans des celliers, clapiers et locaux divers où se réfugiaient pendant le jour des *Culex*, des *Anopheles* et parfois des *Theobaldia*, nous n'avons observé aucun moustique momifié par des champignons et fixé sur les murs par des crampons mycéliens. Les 105 *Culex pipiens* et l'unique femelle de *Theobaldia annulata* infectés ont été récoltés sur l'eau des différents gîtes artificiels où nous recueillions chaque jour des pontes de moustiques, ainsi que des femelles sur le point de déposer leurs œufs, afin d'étudier le mécanisme de la ponte.

Nous ne connaissons pas les tropismes qui conduisent les moustiques parasités vers les gîtes de ponte, et il est possible que l'infection ait déterminé chez eux des changements dans leurs comportements habituels, comme cela s'observe chez presque tous les insectes hébergeant les entomophthorées. Notons cependant que leur rythme d'activité nocturne n'a pas été modifié.

A l'exception de trois *Culex pipiens* morts (2) dont l'abdomen était

(1) En Afrique du Sud, Skaife (1925) a constaté que dans une petite cage renfermant plusieurs centaines de sauterelles infectées par *Empusa grylli*, quinze d'entre elles ont survécu plusieurs semaines à la mort de toutes les autres, sans être cliniquement malades. Sacrifiées, elles ont montré une infection discrète par des fragments mycéliens ne s'étant pas multipliés en cinq ou six jours, comme cela se produit dans les cas terminés par la mort.

(2) Signalons qu'un de ces trois moustiques, récolté le 5 septembre et qui semblait mort, a évacué près de son extrémité postérieure dans un petit cristallisoir cinq œufs qui se sont placés verticalement sur l'eau, comme c'est le cas habituel.

rempli d'œufs mûrs et noirs (1) (fig. 11), tous les autres avaient leur corps envahi par les champignons et ne présentaient aucun œuf. Il est vrai que ces animaux avaient peut-être déposé leurs œufs le soir, avant de mourir et d'être complètement envahis par les *Empusa*.

La présence des trois *Culex* morts avec l'abdomen rempli d'œufs permet de soutenir cette dernière hypothèse, et si celle-ci est bien

Fig. 7. — *Entomophthora conglomerata*. — Coupe sagittale du thorax d'un *Culex* infecté (1/XXX, lame) montrant des azygospores (OE) et des conidiophores sortant en arrière du scutellum.

fondée, la présence d'animaux infectés sur l'eau n'a rien de bien particulier. Cependant, il est intéressant de signaler que nous avons trouvé quatre *C. pipiens* mâles infectés, morts sur l'eau. Etaient-ils venus

(1) Les œufs renfermés dans l'abdomen des *Culex pipiens*, tués par un procédé quelconque restent blancs. Ceux des trois *Culex* morts de leur infection à *Empusa*, étaient noirs et remplissaient l'abdomen. Nous pensons que cette coloration est due à quelque substance sécrétée par le champignon parasite. Chacun sait, en effet, que les œufs des *Culex*, fécondés ou non, sont blancs ou jaunâtres au moment de la ponte et qu'ils noircissent en quelques heures, même à l'obscurité. Cependant, nous avons constaté que les nacelles de *Culex pipiens*, déposées sur des gîtes artificiels rendus toxiques par de l'arsénite de soude (0,5 à 0,025 p. 100), restent blancs ou jaunâtres et n'éclosent pas.

attirés par les femelles, malgré leur infection intense, ou avaient-ils simplement été attirés par l'eau par suite de leur parasitisme, c'est ce que nous ne pouvons établir pour le moment mais ce que nous croyons plus vraisemblable car, dans la nature, ce sont les femelles qui semblent rechercher les mâles en entrant dans l'essaim nuptial de ces derniers.

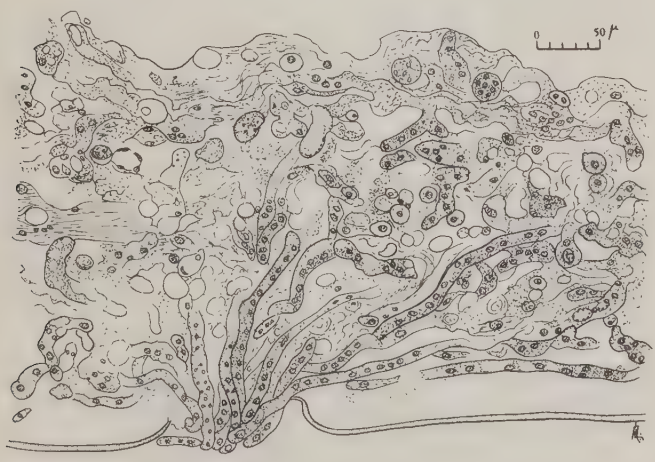


Fig. 8. — *Entomophthora conglomerata.* — Coupe sagittale de l'abdomen d'un *Culex infecté* (110/XXX, lame 4). Invasion des tissus; filaments gagnant l'extérieur par un espace interannulaire.

Revenons donc à l'évaluation de la morbidité déterminée chez les moustiques par les *Empusa*, évaluation qui présente un intérêt tout particulier pour l'interprétation des expériences d'infection artificielle.

Les divers gîtes de ponte que nous avions disposés nous ont permis de récolter du 5 août au 30 septembre 1940, 3.277 nacelles de *C. pipiens* et quatre de *Theobaldia annulata*, et il est à peu près certain que ces gîtes ont été explorés par un beaucoup plus grand nombre de moustiques. Or, du 29 août au 30 septembre, période pendant laquelle plus de 2.000 nacelles ont été récoltées, le nombre de moustiques tués par les *Empusa* n'a pas dépassé 106 (105 *Culex* dont 101 femelles et 4 mâles) et 1 femelle de *T. annulata*, soit un pourcentage d'environ 5, chiffre faible si on le compare à ceux observés par

divers auteurs chez d'autres insectes infectés par des entomophthorées (1).

En effet, quand les conditions climatiques sont favorables au développement des entomophthorées, les pourcentages d'animaux tués sont très considérables. C'est ainsi que, d'après beaucoup d'auteurs, la

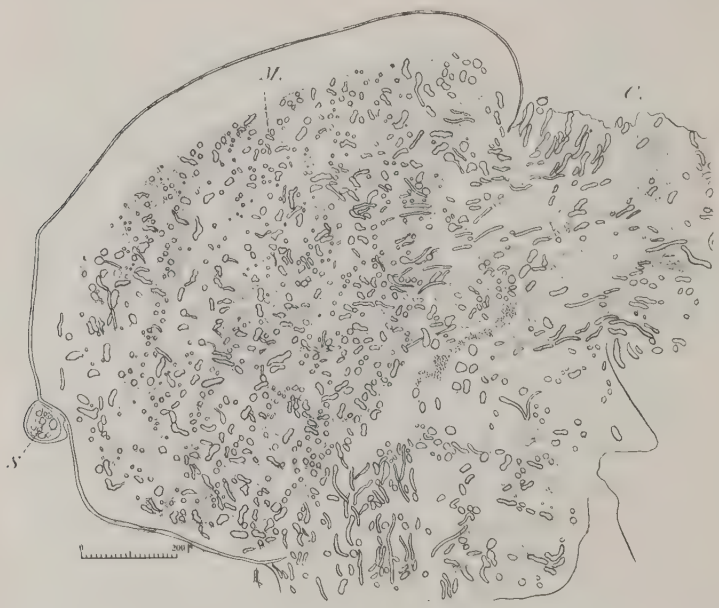


Fig. 9. — *Entomophthora conglomerata*. — Coupe sagittale du thorax du *Culex* 442/XXX. Les muscles thoraciques (M) sont à peu près complètement envahis par le champignon. C, région cervicale; S, scutellum.

mouche domestique peut entièrement disparaître en automne par suite de l'infection déterminée par l'*Empusa muscae*. En 1877 et 1878, Cornu et Brongniart, puis Molliard, en 1924, ont observé des épizooties anéantissant presque tous les exemplaires de syrphes (*Syrphus mel-*

(1) Outre les 105 *Culex pipiens* infectés, nous avons récolté environ 50 femelles mortes, non infectées, ayant probablement succombé après avoir effectué leur dernière ponte, sur un total de plus de 2.000 femelles ayant déposé leurs nacelles du 20 août au 30 septembre 1940. Comme les élevages de nombreux auteurs ont permis de l'établir, les femelles de moustiques bien alimentées ne meurent pas après leur première ponte, comme on l'admettait il y a encore quelques années.

lidus) de certaines régions. En 1897, A. Giard a signalé l'anéantissement des chenilles de l'*Agrotis segetum* par *E. megasperma*. Von Tubeuf (1893), cité par Gueguen (1904), a constaté qu'*E. grylli* déterminait des épizooties meurtrières chez les chenilles du sapin. Mattirolo (1898), Fawcett (1908), Tolson (1909), Speare et Colley (1912), Majmone (1914), Burger et Swain (1918), Speare (1922), Dustan (1923-1924) cités par Sawyer (1929), Skaife (1925), ont observé des pourcentages très élevés de mortalité dans le cas de différents insectes nuisibles aux cultures. Sawyer (1929) a lui-même relevé une mortalité de 90 p. 100 chez des larves d'un ver luisant (*Rhopobota vacciniana*), infectées par l'*Entomophthora sphaerosperma*. Citons enfin l'épizootie

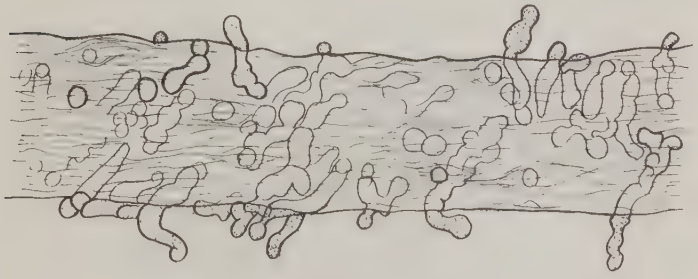


FIG. 10. — *Entomophthora conglomerata*. — Fragment de muscle thoracique du *Culex* 116/XXX (lame 3) envahi par le mycélium.

signalée par Pettit (1903) sur des moustiques de l'état de Michigan, infectés probablement, d'après nous, par *Entomophthora rhizospora*.

Nos études, effectuées pendant l'été 1940 seulement, ne nous ont pas permis de préciser les conditions étiologiques générales ou individuelles qui favorisent le développement des infections à *Empusa*, mais nous comptons combler cette lacune ultérieurement.

Le seul exemplaire infecté expérimentalement (*C. pipiens*, n° 11/XXX), qui est mort trois jours après son éclosion et dix-huit jours après l'infection larvaire probable, nous permet de dire que la maladie de l'adulte a duré trois jours seulement.

Identification du champignon parasite.

Afin de pouvoir identifier l'*Empusa* de Richelieu et la comparer avec les diverses espèces déjà récoltées en Europe ou en Amérique sur

des culicidés, nous résumerons ses caractères dans les lignes qui suivent :

Conidies ovoïdes, à base large, à sommet arrondi, non apiculé, de dimensions variables chez le même moustique, 45 × 30 μ, 40 × 30 μ, 35 × 18 μ, 34 × 20 μ, 20 × 14 μ, toujours uniguttulées, à vacuole volumineuse. Les conidies expulsées ne semblent pas entourées d'une masse protoplasmique provenant du conidiophore. Conidiophores simples, claviformes au sommet, dressés, prenant naissance sur des fragments mycéliens irréguliers produisant un filament simple de 400 à 450 μ de longueur. Conidiophores en colonies blanches émergeant dans les espaces intersegmentaires de l'abdomen (fig. 1), des articulations des pattes et des ailes parfois même au niveau du

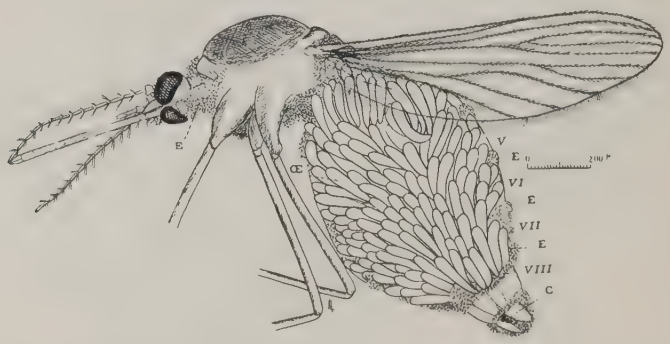


Fig. 11. — *Entomophthora conglomerata*. — *Culex pipiens* 115/XXX, trouvé mort sur un pondoir artificiel et renfermant de nombreux œufs noirs (OE) dans son abdomen. E, touffes de conidiophores; C, cerques.

cou, ne formant jamais un feutrage continu à la surface du corps. Cystides absentes; conidies secondaires rares, ressemblant aux conidies primaires, mais plus petites, de 20 × 16 μ environ. Œufs (azygospores) surtout latéraux, sphériques, incolores, mesurant de 25 à 54 μ, prenant naissance sur des fragments mycéliens courts, irréguliers.

Hôtes parasités trouvés sur l'eau, ne se fixant pas par des rhizoïdes sur les supports placés sous eux après leur mort.

L'*Empusa* dont nous venons de donner les caractères, se distinguerait, d'après nos recherches, des espèces décrites sur divers insectes autres que les moustiques. Avant de la comparer avec les espèces trouvées sur les culicidés, nous donnerons, ci-dessous, les diagnoses données par les auteurs qui les ont observées.

II. — REVISION DES ENTOMOPHTHORÉES DES MOUSTIQUES

Les moustiques d'Europe et d'Amérique peuvent être infectés par les six entomophthorées suivantes : *Empusa culicis*, *E. sphaerosperma*, *E. conglomerata*, *E. rhizospora*, *E. henrici* et *E. schræteri*.

1. **Empusa culicis** A. Braun, 1855. Synonymie (d'après Thaxter) : *Entomophthora culicis* Fresenius, 1858 ; *Lamia culicis* Nowakowski, 1883 ; *Entomophthora rimosa* Sorokin, 1876 *non* Schræter, 1886 (1) ; ? *Saprolegnia minor* Kützing, 1843.

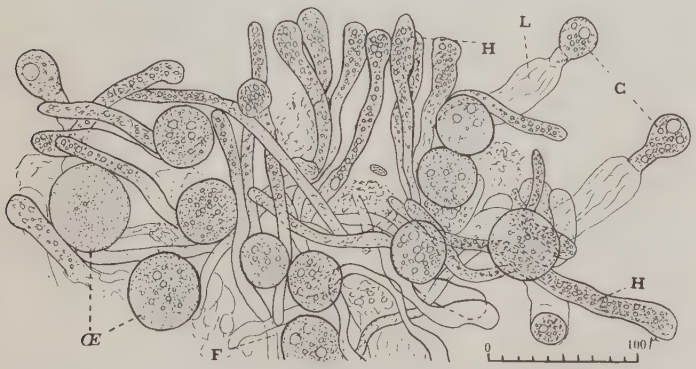


FIG. 12. — *Entomophthora conglomerata*. — Dilacération du thorax du *Culex* 107/XXX, montrant de nombreuses azygospores (OE), des filaments mycéliens (F), des hyphes jeunes (H) et des conidies primaires (C).

« Conidies campanuliformes ou presque sphériques, à base large et à sommet pointu, petites, 8 sur 10 μ à 15 sur 16 μ et une moyenne de 11,5 sur 12 μ ; généralement pourvues d'une seule grosse vacuole et entourées après leur expulsion par une masse protoplasmique. Conidiophores simples avec parfois une tendance à devenir composés, claviformes au sommet et s'atté-

(1) Thaxter considère l'*E. rimosa* trouvée par Sorokin sur des *Chironomus* sp. comme synonyme d'*E. culicis*. Cet auteur se base en partie sur l'opinion uniciste de Nowakowski, réfutée par Sorokin, ainsi que sur une étude insuffisante du travail de ce dernier auteur dans lequel celui-ci n'aurait donné aucune dimension des conidies de sa nouvelle espèce. Or, sur la planche XIII du mémoire de Sorokin, les éléments microscopiques sont tous figurés à une échelle de 500 diamètres, ce qui permet de donner à la spore uniguttulée d'*E. rimosa* des dimensions de 16 × 10 μ.

nuant à la base, formant des masses blanches ou verdâtres qui peuvent parfois se réunir et couvrir le corps de l'hôte. Cystides présentes d'après Nowakowski. Conidies secondaires semblables aux conidies primaires ou ovoïdes, avec un sommet arrondi, et formées par un bourgeonnement direct de la conidie primaire. Œufs (azygospores), terminaux ou latéraux, sphériques, incolores, de 25 μ de diamètre environ. Hôte attaché à un support par des rhizoïdes » (Thaxter, 1888) (1).

2. **Entomophthora sphærosperma** Fresenius, 1856. Synonymie d'après Thaxter : *Tarichium sphaerospermum* Cohn, 1875 ; *Empusa radicans* Brefeld, 1870 ; *Entomophthora radicans* Brefeld, 1877 ; *Entomophthora phytonomi* Arthur, 1886.

« Conidies longues, elliptiques ou sub-cylindriques, papillées à la base et s'amincissant sur le sommet arrondi ; de 15 à 26 μ de longueur sur 5 à 8 μ de largeur ; moyenne de 20 × 5,5 μ. Conidiophores très ramifiés et confluents sur le corps de l'hôte, formant généralement une masse à partie supérieure aplatie. Conidiophores digités. Champignon de couleur blanche ou parfois vert clair. Cystides grêles, peu abondantes. Conidies secondaires comme les conidies primaires ou en forme d'amande et portées par un conidiophore capillaire. Œufs : azygospores ou zygospores (?), latéraux ou terminaux, sphériques, hyalins ou faiblement jaunâtres de 20 à 35 μ de diamètre (moyenne : 25 μ).

Hôte fixé au support par des « rhizoïdes » » (Thaxter).

Ce champignon, très ubiquiste, a été rencontré sur les insectes les plus divers et Thaxter (2) le signale sur les culicidés sans donner de précision sur les genres ou les espèces attaquées appartenant à cette dernière famille.

3. **Empusa conglomerata** Sorokin, 1876, E. Brumpt *emend.* (fig. 13). Conidies ovoïdes, non apiculées, pourvues généralement d'une seule grosse vacuole, mesurant de 26 à 45 μ sur 20 à 34 μ, soit une moyenne de 34 × 28 μ. Conidiophores simples, claviformes ; conidies secondaires semblables aux conidies primaires, mais plus petites. Œufs azygosporés sphériques, lisses, formés sur

(1) Comme nous le dirons plus loin dans l'historique, Thaxter n'a observé *E. culicis* qu'une seule fois sur un *Culex* sp., aux États-Unis, dans une localité où les *Culex* (sp. ?) étaient nombreux et où de multiples petits diptères étaient infectés. S'agissait-il de l'espèce décrite par Braun et par Nowakowski ?

(2) Il est fâcheux que dans son travail fondamental, Thaxter n'ait pas fait, dans certains cas, déterminer par des entomologistes, différents hôtes parasités qu'il désigne trop souvent par un nom vulgaire. C'est ainsi qu'il signale la présence d'entomophthorées sur des « Gnats », terme qui désigne parfois les moustiques, mais est la traduction du mot français « moucheron ». C'est pourquoi, en nous basant sur les travaux de Guegnen et de Sartory, qui avaient traduit « gnats » par « moustiques », nous avons signalé dans notre *Précis de parasitologie* (1936) des espèces non parasites de moustiques.

Fig. 13. — *Entomophthora conglomerata* d'un moustique, d'après Sorokin, 1877. — 1, « stroma » (*s*), sur lequel naissent des conidiophores ; 2, fragment mycélien portant un seul conidiophore ; 3, 4, 5, 6, conidies primaires ; 7, conidie primaire placée sur une masse protoplasmique (*p*) projetée par le conidiophore ; 8, filament mycélien sortant d'une conidie (*c*), la partie vivante est séparée de la partie vidée de son protoplasme par une cloison (*CE*) ; 9, filament mycélien jeune. Grossissement 450 x.

des fragments mycéliens irréguliers bourgeonnants et souvent portés par une sorte de col de longueur variable.

Hôte infecté flottant souvent sur l'eau (1).

(1) Thaxter a trouvé l'*Empusa* qu'il rapporte avec doute à *E. conglomerata* sur des tipules adultes et larvaires aux États-Unis ; nous sommes à peu près certain que l'*E. conglomerata* de Thaxter est une espèce différente de celle décrite antérieurement par Sorokin et mieux étudiée ultérieurement sous le nom d'*E. grylli* par Nowakowski. Pour éviter les confusions, nous la désignerons sous le nom d'*Empusa thaxteri*, en donnant ci-dessous la traduction de la diagnose établie par Thaxter pour le parasite des tipules d'Amérique :

Empusa thaxteri Brumpt, 1940. — (Synonymie : *Empusa conglomerata* Thaxter,

4. **Empusa (Entomophthora) rhizospora** Thaxter, 1888. « Conidies claviformes ou en forme de croissant ; très variables, à extrémités plus ou moins atténuées ; portion basale en forme de col, portant une papille arrondie ; contenu présentant plusieurs grandes vacuoles ; dimensions : 30 à 35 μ de longueur sur 8 à 10 μ de largeur ; maximum de longueur : 42 μ. Conidiophores digités, coalescents en une masse d'un blanc livide sur le corps de l'insecte. Cystides volumineuses, peu abondantes, légèrement atténuées. Conidies secondaires identiques aux conidies primaires ou sphériques avec une base tronquée et une papille délicate. Œufs : zygospores sphériques, de 40 à 60 μ avec un épispore brunâtre, bourgeonnement de gamètes du type *Spirogyra*, et entourés plus tard par des filaments provenant de sa base et étroitement appliqués sur lui. Les hyphes produisant les zygospores sont toujours externes et en devenant plus épaisses et cornées, prennent une teinte brun chocolat foncé ; elles renferment les œufs dans une masse spongieuse ».

L'hôte est attaché au substratum par de nombreux rhizoïdes. Trouvé aux Etats-Unis sur plusieurs genres de Phryganidés (Thaxter), et vraisemblablement, d'après nous (1), sur des moustiques, par Pettit, également aux Etats-Unis.

5. **Entomophthora henrici** M. Molliard, 1918. « Filaments conidiens très ramifiés ; conidies ovoïdes, hyalines, pluriguttulées, à sommet non apiculé, 13-18 = 20-24 μ ; conidies secondaires de même forme ; des cystides ; des chlamydospores ; azygospores sphériques, incolores, de 32-36 μ de diamètre ;

1888, *non* Sorokin, 1876). — Conidies ovoïdes, pourvues généralement d'une seule grosse vacuole, mesurant de 22 à 25 μ sur 25 à 40 μ, soit une moyenne de 23 × 32 μ. Conidiophores simples, claviformes ; conidies secondaires semblables aux conidies primaires. Œufs azygosporés, formés par des fragments mycéliens globuleux et portés sur une sorte de col de longueur variable. Hôte infecté flottant sur l'eau ou gisant parmi les mousses aquatiques. Découvert aux États-Unis sur des tipules larvaires et adultes par Thaxter (1888).

(1) L'entomophthorée qui a produit une épizootie très meurtrière chez des culicidés du Michigan (U. S. A.), en août 1902, a été caractérisée assez sommairement par Pettit qui l'a découverte. Voici les points essentiels de sa description, reproduite dans le livre d'Howard, Dyar et Knab (1913) et dont nous donnons la traduction ci-après :

« L'aspect du champignon des moustiques est tout à fait caractéristique. Le corps entier de l'insecte est gonflé et couvert d'un duvet d'un blanc terne, quelquefois presque gris de plomb. Le corps de l'hôte est maintenu par de nombreux filaments grêles et brunâtres. L'examen microscopique montre que le duvet est constitué par des filaments (mycélium) portant des spores à leur extrémité distale. Ces filaments sont généralement simples ; mais portent parfois quelques courtes ramifications ; ils sont cloisonnés de loin en loin, granuleux et renferment des vacuoles. Les spores sont en croissant, émoussées aux deux extrémités. Elles mesurent 50 μ de longueur sur 13 μ de largeur ; quelques-unes peuvent avoir 55 μ et d'autres 28 μ. Elles sont finement granuleuses et présentent des globules oléagineux habituellement près des extrémités. Dans un seul insecte, de nombreux œufs (*resting spores*) ont été rencontrés et, dans ce cas, le mycélium avait en grande partie disparu. Les œufs étaient sphériques, hyalins avec de nombreux globules diaphanes internes, et mesuraient de 40 à 44 μ de diamètre ».

cadavre de l'insecte fixé au support par des crampons à ramification terminale irrégulièrement discoïde » (Molliard).

6. **Entomophthora schrœteri** n. sp. E. Brumpt, 1940. Syn. *E. rimosa* Schrœter, 1886, *non* Sorokin, 1886. Conidiophores ramifiés dans leur partie supérieure, atteignant 15 μ de largeur ; pas de cystides ; mycélium à l'intérieur du corps de l'insecte, formant des filaments allongés et ramifiés de 8 à 11 μ de diamètre ; conidies ovales ou piriformes, pourvues d'une papille arrondie mesurant en général de 20 à 25 μ de long sur 14 à 17 μ de large. Rhizoïdes clairsemés à la surface du corps de l'hôte.

Cette espèce a été trouvée sur des moustiques (sp.) en juillet et en août ; puis sur des *Chironomus* sp., à Breslau, dans une chambre et en très grand nombre, par Schrœter. Cet auteur écrit en note que la description donnée par Sorokin de son *Entomophthora rimosa* trouvé sur des *Chironomus* sp. ne comporte aucun renseignement sur les spores et la ramification des conidiophores, c'est pourquoi il doute que l'espèce qu'il a étudiée et dont nous donnons ci-dessus les caractères d'après son travail, appartienne à la même espèce que celle trouvée par Sorokin.

La critique de Schrœter est mal fondée en ce qui concerne le travail de Sorokin illustré d'un dessin dans le texte (p. 394) montrant que les conidiophores ne sont pas ramifiés. L'auteur russe indique de plus que tous les dessins microscopiques d'une planche (XIII), ont été grossis 500 fois, ce qui permet de connaître les dimensions du mycélium et des spores. Nos mensurations des figures des planches de Sorokin donnent 8 μ de diamètre pour les filaments portant les conidiophores qui, eux, présentent la même largeur que les spores apiculées, soit de 10 à 12 μ. Les conidies primaires mesurent 16 × 10 μ et sont donc beaucoup plus petites que celles décrites par Schrœter, ce qui justifie l'opinion de ce dernier auteur relativement à la non identité des espèces. C'est pourquoi, afin d'éviter de désigner sous le même nom des espèces différentes, nous avons cru nécessaire de donner un nom spécifique particulier au champignon étudié par Schrœter.

III. — L'*EMPUSA* DES MOUSTIQUES DE RICHELIEU

Les auteurs sont loin d'être d'accord sur l'emploi des noms génériques *Empusa* et *Entomophthora*. Le genre *Empusa* a été créé par Cohn en 1845 pour l'*Empusa muscæ* des mouches domestiques. En 1856, Fresenius, ayant constaté que le nom d'*Empusa* avait déjà été

employé pour désigner une orchidée, le remplaça par celui d'*Entomophthora*. Mais, ultérieurement, Brefeld et Nowakowski, ainsi que les auteurs modernes, en particulier Sawyer (1929), ayant utilisé ces deux noms et les considérant comme possédant chacun une valeur générique, nous acceptons cette dernière conception.

Le genre *Empusa* est caractérisé par des conidiophores simples et des conidies multinuclées, et le genre *Entomophthora*, par des conidiophores ramifiés et des conidies unicléées.

L'espèce étudiée par nous ayant des conidiophores simples et des spores multinucléées (fig. 14), appartient donc au genre *Empusa*.

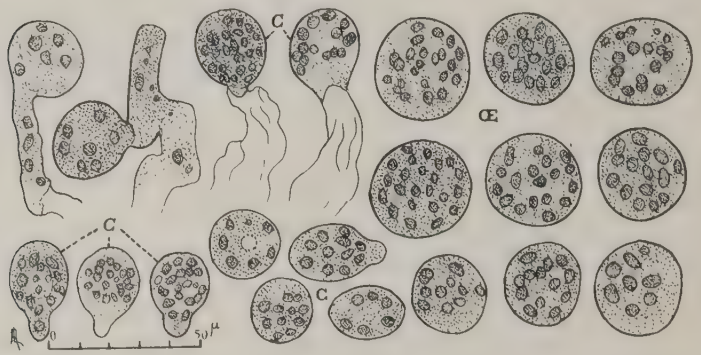


FIG. 14. — *Entomophthora conglomerata*. — Azygospores (OE) et conidies primaires (C) colorées et multinucléées, d'une coupe de thorax du *Culex* 1/XXX.

Or, parmi les six espèces d'entomophthorées existant sur les moustiques, l'espèce que nous avons examinée ne possédant pas de conidiophores ramifiés ne peut être aucune des trois espèces suivantes : *Entomophthora sphaerosperma*, *E. henrici*, *E. schrœteri*. Les dimensions et la forme de ses spores l'éloignent absolument des *E. culicis* et *E. rhizospora*, et nous la rapportons à l'espèce *Empusa conglomerata*, décrite par Sorokin, d'après les échantillons récoltés par cet auteur sur divers culicinés européens.

Notre *Empusa* s'éloigne d'autre part des cinq premières espèces par l'absence de rhizoïdes que nous n'avons pas réussi à faire développer en mettant les moustiques récoltés sur l'eau sur des lames introduites dans une atmosphère saturée d'humidité dans des tubes bouchés.

Cependant, la description de Sorokin ne coïncide pas parfaitement avec la nôtre. En effet, nous n'avons jamais vu les conidiophores de

notre *Empusa* naissant sur la même masse mycélienne (stroma de Sorokin, fig. 8 et 9, pl. XIII), tous ceux que nous avons pu suivre, soit dans l'insecte entier, soit dans des dilacérations (fig. 2 et 3) naissent individuellement sur des fragments mycéliens irréguliers. D'autre part, ni sur des lames placées sous les moustiques infectés, ni sur les ailes parfois couvertes de conidies de ces animaux, nous n'avons jamais aperçu les conidies entourées d'une masse protoplasmique comme celle figurée par Sorokin (fig. 11, pl. XIII). Enfin, comme Sorokin ne

Fig. 15. — *Entomophthora conglomerata* d'un *Culex*, de 1 à 4 ; *E. grylli*, 5 ; d'après Nowakowski. — 6 et 7, *E. grylli* ; 8 et 9, *E. thaxteri*, d'après Thaxter. — 1, conidies primaires ; 2, fragments mycéliens ; 3 et 4, formation de l'œuf d'*E. grylli* ; 8 et 9, formation de l'œuf d'*E. thaxteri*.

semble pas avoir vu les azygospores du champignon, nous sommes empêché de comparer ces importants éléments d'identification dont nous avons pu trouver la description dans le mémoire de Nowakowski. Les figures données par ce dernier auteur des formes conidiennes, mycéliennes et des azygospores, trouvées par lui chez des moustiques (fig. 72, 83, 95 et probablement 88 à 93, pl. XI) sont tout à fait comparables à celles que nous avons étudiées (fig. 3, 12). Nowakowski rapporte le champignon découvert par lui à l'espèce *E. grylli*, parasite habituel de plusieurs espèces de sauterelles d'Europe et d'Amérique, mais il est certain qu'il a eu affaire à deux espèces différentes, car le mode de production des zygospores figurées dans sa

planche XI (fig. 94 et 96) est celle du véritable *E. grylli*, ainsi que Thaxter l'a signalé avant nous (fig. 15).

Thaxter dans la description de l'*Empusa conglomerata*, provenant de tipules américaines, signale que la seule différence morphologique trouvée par lui entre *E. grylli* et *E. conglomerata* est le mode de formation de l'œuf. Dans le premier cas, cet élément naît sur des fragments mycéliens parfois irréguliers (6 et 7, fig. 15), tandis que dans le second cas, il se produit par bourgeonnement d'une masse sphérique (8 et 9, fig. 15).

En ce qui concerne l'espèce étudiée par nous, les figures 3 et 14 montrent que les azygospores naissent sur des fragments mycéliens très irréguliers, identiques à ceux qui donnent naissance aux conidiophores.

Pour conclure cette discussion et en dépit des différences signalées entre le parasite décrit par Sorokin, puis Nowakowski, et le nôtre, nous estimons que les moustiques de Richelieu sont infectés par l'*Empusa conglomerata* ou une variété locale de cette espèce. Ce champignon doit être strictement spécifique pour les moustiques, car les *Chironomus* sp. vivant dans les cuves où Sorokin avait trouvé de nombreux moustiques parasités, étaient infectés à l'état larvaire et adulte par une autre espèce d'*Empusa*, *E. rimosa* Sorokin, 1877, que Nowakowski (1883), puis Thaxter considèrent, probablement à tort, comme identique à l'*Empusa culicis* Braun (1855). Sorokin a défendu contre ces auteurs l'individualité de son *Empusa rimosa* et nous partageons cette opinion, car s'il s'était agi de l'*E. culicis*, il serait difficile de comprendre pourquoi, dans le même gîte du jardin botanique de Kazan et à la même époque, les *Culex* ont toujours présenté *E. conglomerata*, tandis que les *Chironomus* sp. auraient été invariablement infectés par *E. culicis*.

IV. — HISTORIQUE

C'est Braun qui a signalé pour la première fois, en 1855, l'infection d'un moustique, *Culex pipiens*, par une entomophthorée, à laquelle il donna le nom d'*Empusa culicis*. Cet auteur avait trouvé, pendant l'été, des insectes malades au jardin botanique de Berlin, sur les parois de baquets renfermant de l'eau. D'après une communication verbale faite à Eidam (1872), Braun aurait signalé l'infection de *Culex* dès l'éclosion de l'adulte, ce qui lui permettait de penser que la contamination pouvait se produire quand les larves viennent à la surface de l'eau pour respirer.

En 1858, Fresenius figure quelques conidiophores et des conidies d'*E. culicis* d'après du matériel qui lui avait été adressé par Braun.

Sorokin, en 1877, publia les observations qu'il avait faites au jardin botanique de Kazan en juillet 1876, époque à laquelle il avait récolté sur l'eau de divers bassins de très nombreux moustiques morts appartenant à diverses espèces : *Culex pipiens*, *Culex annulatus* (= *Theobaldia annulata*) et *C. nemorosus* (?), tués par une *Empusa*. Il décrivit assez incomplètement ce champignon, mais il en donna des figures très utilisables et le nomma *Entomophthora conglomerata*. Dans les mêmes collections d'eau, à la même époque, Sorokin signala chez des *Chironomus* sp. adultes et chez une larve, une autre entomophthorée à spores aciculées à laquelle il donna le nom d'*Entomophthora rimosa*.

Nowakowski (1883) étudia, sous le nom d'*Empusa grylli* Fresenius, 1856, un champignon trouvé par lui chez des *Culex pipiens* et des *Culex annulatus* (= *Theobaldia annulata*) du jardin botanique de Varsovie en 1878, ainsi que sur des sauterelles (*Gomphocerus biguttulus*). En réalité, cet auteur a eu affaire à deux espèces d'entomophthorées. Celle des sauterelles est bien l'*Empusa grylli*, mais celle qu'il figure comme provenant de *Culex pipiens* est certainement l'espèce déjà vue par Sorokin chez ce même moustique et décrite par lui sous le nom d'*Entomophthora conglomerata*.

Nowakowski retrouva *E. culicis* chez *Culex* sp. et en donna de bonnes figures dans la planche XII de son mémoire (fig. 15).

C'est probablement l'*Entomophthora conglomerata* que Schrœter (1886) signala sous le nom d'*E. grylli* et qu'il a trouvée une fois chez un moustique sp. à Breslau, en 1884. Sous le nom d'*Entomophthora rimosa* Sorokin, 1877, ce même auteur donna la description d'un champignon très différent de celui trouvé par Sorokin sur des adultes et une larve d'un *Chironomus* sp. Il découvrit ces entomophthorées sur des moustiques sp. en juin et août et, fréquemment, sur des *Chironomus* sp. adultes. La description, quoiqu'incomplète de Schrœter permet d'accepter l'opinion de Thaxter qui considère le champignon vu par cet auteur et auquel nous avons donné dans les pages précédentes le nom d'*E. schrœteri* comme différent de l'*E. rimosa* de Sorokin.

En 1903, Pettit constata pour la première fois une véritable épizootie détruisant de très nombreux moustiques dont l'espèce n'a malheureusement pas été déterminée. Le même champignon attaquait un *Chironomus* sp., plusieurs exemplaires de muscidé, et une libellule du genre *Diplax*. D'après la description sommaire de l'auteur (1), il

(1) Voir p. 128, en note.

s'agit, pour le parasite des moustiques, d'une espèce que nous rapportons à l'*Entomophthora rhizospora*, décrite par Thaxter en 1888 et parasite de plusieurs espèces de phryganes. Le champignon vu par Pettit ne diffère de l'espèce de Thaxter que par ses œufs qui sont hyalins (1), alors que chez *E. rhizospora*, ils deviennent brun-chocolat quand ils sont mûrs. Dans les deux cas, les cadavres d'insectes sont entièrement recouverts par les conidiophores et les rhizoïdes du champignon.

En 1888, dans son travail classique sur les entomophthorées américains, Thaxter a étudié l'*Empusa culicis* qu'il a trouvée chez un seul exemplaire de *Culex* sp. et chez un exemplaire de *Simulium molestum*, alors que les moustiques étaient très abondants et que de nombreux petits diptères tués par ce champignon étaient fixés à la face inférieure des feuilles de diverses plantes, ce qui semble établir la faible réceptivité des moustiques ou, peut-être, l'existence sur les moustiques d'une autre espèce que sur les petits diptères américains. Ce même auteur signale les « culicidæ » comme étant infectés par *Empusa* (*Entomophthora*) *sphaerosperma*.

Dans leur importante monographie des Moustiques, publiée en 1912, Howard, Dyar et Knabb, donnent un intéressant extrait du travail de Pettit sur une épizootie meurtrière, occasionnée chez des moustiques par un champignon que nous rapportons à l'espèce *E. rhizospora*.

En 1918, Molliard a capturé en France sur une feuille d'arbre (2) un *Culex pipiens* infecté par une nouvelle espèce de champignon à laquelle il a donné le nom d'*Entomophthora henrici* et dont il obtint la culture.

Eugling (1921) qui a observé une certaine mortalité chez des *Anopheles maculipennis* en Macédoine, fait un rapprochement entre les champignons trouvés sur les moustiques et l'*Empusa muscae*. A notre avis, il est à peu près certain qu'il a observé une couronne de saprolegniées sur le corps des insectes, ce qui se produit en quelques heures, en été, sur une quantité d'animaux morts, laissés dans l'eau pendant plus de vingt-quatre heures.

Marshall (1938) a observé en Angleterre une entomophthorée, qu'il

(1) Il est vrai que Pettit n'a vu les œufs qu'une seule fois et peut-être a-t-il eu affaire à des éléments jeunes, non encore pigmentés. Il est regrettable que cet auteur ne dise pas si ces œufs étaient à l'intérieur ou à la surface du corps des moustiques. Les œufs d'*Entomophthora rhizospora*, comme Thaxter l'a signalé, sont en effet formés à l'extérieur du corps des hôtes parasités.

(2) Communication verbale.

pense être une *Empusa*, chez deux espèces de moustiques : *Aedes detritus* et *Culex pipiens*.

A la station de parasitologie expérimentale de Richelieu, comme nous l'avons déjà signalé, entre le 29 août et le 30 septembre, nous avons eu l'occasion de récolter 105 *Culex pipiens* infectés sur environ 2.000 venus déposer leurs œufs sur des pondoirs artificiels et un seul exemplaire de *Theobaldia annulata* sur 5 observés sur ces mêmes gîtes.

V. — EXPÉRIENCES PERSONNELLES

Nous avons essayé d'infecter des moustiques à l'état adulte, soit par la voie cutanée, soit par la voie digestive, ainsi que des larves par ces deux procédés à la fois en utilisant toujours des *Culex pipiens* récoltés le jour même ou la veille et couverts de conidies vivantes susceptibles de germer.

1. Essais d'infection d'insectes adultes par la voie cutanée (1).

Expérience 469/XXIX. — Le 1er septembre 1940, mis dans un tube Borrel placé en milieu humide, 30 *Culex pipiens* et 5 spontanément infectés. Les insectes nourris au suc de raisin sont examinés le 29 septembre. Les 15 moustiques morts et les 12 vivants sont indemnes d'*Empusa*.

Expérience 474/XXIX. — Le 1er septembre, même expérience que la précédente avec 14 *Anopheles maculipennis*, 2 *A. bifurcatus* et 6 cadavres, très infectés, de *C. pipiens*. Le 23 septembre, les animaux morts et vivants sont examinés et se montrent négatifs.

Expérience 509/XXIX. — Le 3 septembre, 6 *C. pipiens* morts très positifs, sont placés dans un tube Borrel avec des *C. pipiens* d'élevage. Le 29 septembre, aucun des 10 exemplaires survivants ne présente d'infection.

(1) La plupart des auteurs admettent que les conidies projetées sur le corps d'un insecte germent et pénètrent à travers les téguments, ce qui est admissible puisque les filaments qui se développent dans le corps sont susceptibles de traverser la peau aux points de moindre résistance. Il faut cependant penser également à la pénétration possible par les stigmates thoraciques ou abdominaux des insectes. Lepesme (1939) a, en effet, réussi très facilement à infecter des sauterelles et à provoquer chez elles une infection générale déterminant la mort en trois ou quatre jours, par l'introduction de conidies d'*Aspergillus flavus* dans la deuxième paire de stigmates thoraciques. Dans le cas des moustiques, les dimensions des stigmates thoraciques et abdominaux sont trop faibles pour permettre la pénétration des conidies primaires de l'*Empusa* que nous avons étudiée.

Expérience 516/XXIX. — Le 4 septembre, même expérience en utilisant une vingtaine de *Stegomyia fasciata* adultes et 5 cadavres de *C. pipiens* très positifs. Le 20 septembre, aucune infection.

Expérience 590/XXIX. — Le 8 septembre, environ 60 *C. pipiens* venant d'éclore sont placés dans un tube avec 6 cadavres de *C. pipiens* très infectés. Le 29 septembre, aucun des 25 survivants et des nombreux morts ne présente d'*Empusa*.

2. Essais d'infection de moustiques adultes par la voie digestive.

Expérience 566/XXIX. — Le 5 septembre, le broyat de 7 *C. pipiens* infectés est étalé sur des grains de raisin coupés en deux et placés sur le tulle fermant un tube Borrel qui renferme 15 *C. pipiens* d'élevage et 1 *Theobaldia annulata* capturé dans la nature. Le 23 septembre, fin de l'expérience, aucun des insectes qui avaient cependant sucé avec avidité le jus de raisin contaminé, ne présente d'infection.

Expérience 583/XXIX. — Le 7 septembre, même expérience avec un broyat de 8 *C. pipiens* positifs et 50 *C. pipiens* venant d'éclore. Le 29 septembre, les moustiques morts et les 30 vivants sont négatifs.

Expérience 24/XXX. — Le 18 septembre, ayant constaté au cours de diverses expériences sur la physiologie du tube digestif des moustiques que ces insectes suçaient très facilement des liquides nutritifs divers imbibant un coton placé sur la mousseline fermant la partie supérieure du tube Borrel, le broyat de 2 *C. pipiens* très infectés est incorporé à du sang citraté. Les moustiques (*C. pipiens*) au nombre de 50 environ, se gorgent tous sur le coton et sont ensuite nourris avec des grains de raisin coupés en deux, car, fait curieux, ils semblent incapables de percer les grains de raisin entiers. Le 29 septembre, aucun des moustiques morts et aucun des 25 survivants ne présentent d'infection.

3. Essais d'infection à l'état larvaire.

Nous avons récolté nos 106 moustiques infectés par les *Empusa*, toujours à la surface de l'eau, où leurs conidies faisaient très souvent un cercle de 10 à 15 millimètres de rayon autour d'eux. Dans ces conditions, il est certain que les larves de moustiques vivant dans ces gîtes sont exposées à contaminer leur corps quand elles viennent respirer à la surface et à ingérer des conidies quand elles broutent le plancton superficiel. Nous avons déjà signalé dans l'historique de ce travail que la possibilité de l'infection larvaire avait été admise par Braun, cité par Eidam (1872).

Afin de vérifier cette hypothèse, des *Culex* infestés et émettant des conidies primaires autour d'eux, ont été mis dans des tubes Borrel, en partie

entiers, à la surface de l'eau, et en partie broyés afin de souiller les aliments des larves de moustiques.

Expérience 445/XXIX. — Le 30 août, 5 *C. pipiens* très positifs sont broyés et donnés comme seule nourriture dans un tube Borrel à environ 50 larves de *C. pipiens* et 20 larves de *Stegomyia fasciata* d'élevage. Le 31 août, donné un nouveau broyat de 4 *Culex* infectés. Du 31 août au 10 septembre, les larves évoluent normalement et le 10 septembre des *Culex* et des *Stegomyia* éclosent et sont nourris avec du jus de raisin. Le 14 septembre, quelques *Stegomyia* morts sur l'eau sont négatifs. Le 17, 21 mâles et 4 femelles de *C. pipiens* sont normaux, mais sur l'eau se trouvent 6 *Culex* morts et l'un d'eux (11/XXX) présente une infection caractéristique par l'entomophthorée. Le 20 septembre, les 4 larves de *Stegomyia* et les 10 derniers *C. pipiens* sont sacrifiés et ne montrent aucune infection.

Expérience 13/XXX. — Le 17 septembre, mis dans un tube Borrel renfermant 20 larves d'*Anopheles maculipennis* au 4e stade, 5 *C. pipiens* infectés qui rejettent de nombreuses conidies à la surface de l'eau. Ces insectes sont ensuite broyés. Le 23 septembre, ajouté un broyat de 5 *C. pipiens* positifs. Le 29 septembre, aucun des 8 *Anopheles* éclos depuis quelques jours et aucune des larves ne présentent d'infection. Cependant ces dernières avaient certainement ingéré des conidies, car nous en avons vu dans le tube digestif de l'une d'entre elles, la seule examinée.

Expérience 14/XXX. — Le 17 septembre, des larves jeunes de *C. pipiens*, au nombre de 100 environ, et une vingtaine de larves de *Theobaldia longiareolata*, développées spontanément dans nos pondoirs artificiels, sont placées dans un tube Borrel avec un broyat de 3 *C. pipiens* infectés. Même opération le 23 avec la moitié d'un broyat de 5 *C. pipiens*. Le 29, deux adultes éclos sont négatifs. Les larves sont emportées à Paris dans un bocal avec d'autres larves neuves. Le 30 octobre, parmi de nombreuses éclosions de moustiques, aucune infection n'a été décelée.

En résumé, sur 90 *C. pipiens*, 20 *Stegomya fasciata*, 14 *Anopheles maculipennis*, 2 *A. bifurcatus* adultes mis en contact pendant plusieurs semaines avec des *Culex* spontanément infectés et élevés en milieu humide favorable au développement des champignons, aucun n'a présenté d'*Empusa*.

Sur 115 *C. pipiens* et 1 *Theobaldia annulata* ayant ingéré des conidies d'*Empusa*, aucun ne s'est infecté.

Enfin, sur 150 larves de *Culex pipiens* nourries de cadavres broyés de *C. pipiens* riches en conidies et probablement aussi en azygospores, une seule a donné un adulte présentant une infection typique.

Aucune des 20 larves de *Stegomyia fasciata*, des 20 larves d'*A. maculipennis*, ni des 20 larves de *Theobaldia longiareolata*

n'ont donné naissance à des adultes présentant une infection expérimentale.

En nous bornant à l'étude des *C. pipiens* mis en expérience dans diverses conditions, nous constatons qu'une seule infection a été obtenue sur environ 355 insectes étudiés. Il est possible que dans la nature, cette proportion de 0,28 p. 100, soit encore plus faible (1), aussi il est permis de se demander s'il s'agit d'un parasite spécifique des moustiques ou bien d'un parasite accidentel de ces derniers vivant dans la nature sur des insectes différents, ce que nous chercherons à établir ultérieurement.

Les expériences que nous venons de publier sont, à notre connaissance, les premières qui aient été effectuées sur des moustiques et elles semblent démontrer la faible réceptivité de ces insectes à l'espèce d'*Empusa* que nous avons utilisée. Nous espérons, en employant les méthodes de Molliard (1918) et de Sawyer (1929), obtenir des cultures et étudier le rôle pathogène éventuel de ces dernières pour divers insectes.

D'autres auteurs ont eu des résultats plus heureux que les nôtres en s'adressant à d'autres espèces d'entomophthorées comme nous l'indiquons plus loin.

VI. — VOIES D'ACCÈS EXPÉRIMENTALES DES ENTOMOPHTHORÉES

Malgré les expériences nombreuses effectuées avec différentes espèces d'entomophthorées dont la transmission a pu être opérée d'insectes malades à insectes sains de la même espèce ou appartenant à d'autres espèces, les voies d'accès du parasite n'ont encore pu être établies d'une façon certaine.

Certains auteurs admettent la pénétration à travers la peau, d'autres admettent l'infection par la voie digestive (2). Cette dernière voie de pénétration est d'ailleurs à peu près impossible à éliminer sauf dans

(1) Nous avons signalé antérieurement que parmi les *Culex pipiens* ayant fréquenté nos pondoirs artificiels, 5 p. 100 étaient infectés. Ce chiffre relativement élevé est dû, peut-être, à ce que les insectes malades sont particulièrement attirés par l'eau. Il est en effet bien établi que d'autres insectes attaqués par les entomophthorées, présentent des comportements nouveaux.

(2) Nous n'accordons aucun crédit aux expériences publiées par Hesse (1913) sur la transmission d'*E. muscæ*, cet auteur semblant n'avoir aucune connaissance de la cryptogamie, il croyait en effet que les *Empusa* devenaient des *Mucor* en culture !

le cas des pucerons phytophages (1), car les insectes, saupoudrés de conidies, peuvent toujours absorber des spores avec leurs aliments, également souillés, ou encore s'infecter en léchant les diverses parties de leur corps, comme le font la plupart des insectes.

Un point important à connaître, c'est le pourcentage de réceptivité des insectes. Il est évident que si, dans les conditions naturelles les plus favorables, un seul insecte sur 100, sur 1.000 ou sur 10.000 est réceptif, les expériences faites avec un plus petit nombre risquent fort d'être négatives. Dans nos expériences, il est probable que les résultats que nous avons obtenus tiennent à la faible réceptivité des moustiques à l'espèce d'*Empusa* que nous avons étudiée. Nous n'avons en effet observé que 105 *Culex pipiens* parasités sur plus de 2.000 femelles ayant fréquenté nos pondoirs artificiels, soit une morbidité de 5 p. 100.

La possibilité d'infection par la voie cutanée semble avoir été établie par Brefeld (1873) qui réussit à inoculer des conidies d'*Empusa muscae* sous la peau de mouches domestiques. Ce même auteur, qui a étudié le rôle pathogène d'*Entomophthora sphaerosperma* sur les chenilles du chou (*Pieris brassicae*), en 1877, a établi qu'en l'espace de cinq jours, celles-ci peuvent être entièrement momifiées, et a pu réussir six passages de chenille à chenille. Dans une première série d'expériences comportant 20 témoins, 100 chenilles sont saupoudrées avec des conidies d'insectes ayant l'infection spontanée, et sur ce nombre 81 meurent et présentent dans leur corps des spores durables ou œufs d'autant plus nombreux que la saison était plus avancée. Le second passage a été obtenu en utilisant des conidies d'une chenille du premier passage, infectée six jours plus tôt (2).

En 1888, Thaxter a échoué en utilisant la voie digestive et cutanée avec trois sauterelles du genre *Ceutophilus*, mises avec un exemplaire de la même espèce parasité par l'*Empusa grylli*, mais il fut plus heureux et obtint une infection croisée en contaminant une chenille de *Spiloma virginica* avec des spores d'*E. grylli* provenant d'une sauterelle. En faisant des passages de chenille à chenille, l'infection a été obtenue dans un tiers des cas, et, en utilisant l'*Empusa sphaero-*

(1) Il est évident que les infections si fréquentes chez les pucerons ne peuvent avoir qu'une origine cutanée, la trompe de ces animaux est certainement trop petite pour laisser passer des conidies ou des œufs d'entomophthorées et elle est d'ailleurs presque toujours enfoncée dans les plantes nourricières. Leurs stigmates respiratoires sont également de trop petite taille pour permettre l'introduction des spores dans leur organisme.

(2) Comme les chenilles possèdent des stigmates respiratoires assez grands, on peut également admettre que les spores ont pénétré dans le corps par cette voie.

sperma d'un puceron (*Typhlocyba*), ce même auteur a réussi à infecter des chenilles de *Pieris*.

En 1911, au Dahomey, Roubaud a obtenu un *Stomoxys calcitrans* infecté sur cinq nourris à la pipette avec des conidies d'*Empusa muscae*. Plus tard, en 1922, il a montré que l'infection n'était pas héréditaire dans le cas de ce même champignon, car des œufs pondus par des femelles d'un élevage où la contamination était généralisée, ont donné des insectes indemnes.

Speare et Colley (1912) ont infecté des chenilles d'*Euproctis phæorrhœa* avec l'*Empusa grylli* et Dustan obtint également des infections en utilisant l'*E. sphaerosperma* et le puceron *Psyllia mali*, puis l'*Empusa erupta* et l'hémiptère *Lygus communis*.

Dans des conditions expérimentales, Skaife (1925) a obtenu dans près de 100 p. 100 des cas la mort de la sauterelle rouge sud-africaine, *Nomadacris septemfasciata*. Presque tous les animaux meurent dans l'après-midi du sixième jour entre trois et sept heures.

Signalons encore les expériences importantes faites par Sawyer (1929). Cet auteur, qui a réussi à obtenir en culture l'*Entomophthora sphaerosperma* provenant de larves d'un ver luisant (*Rhopobota vacciniana*), a pu infecter des larves neuves avec des cultures âgées de quatre semaines (1). Il réussit également l'infection par des cultures d'une *Empusa* sp. d'une chenille de *Peronea minuta* à des chenilles saines de cette même espèce. Les animaux témoins restèrent indemnes dans les deux cas.

Des expériences très intéressantes à signaler, bien qu'elles demandent à être confirmées, sont celles effectuées en 1932, à Samara, sur la Volga, par Petrischeva. Cet auteur, qui n'a obtenu aucun résultat en faisant ingérer à *Musca domestica* et à *Muscina stabulans* du matériel infectieux, a réussi à faire succomber 98 p. 100 de ces diptères en les saupoudrant avec un broyat de mouches desséchées, récoltées l'année précédente. Ces résultats remarquables ont été obtenus du début de juin au 15 août 1932, à une époque où aucune mouche capturée dans la nature ne présentait d'infection alors qu'en septembre, dans cette même région, l'*Empusa muscae* tue parfois 100 p. 100 des mouches domestiques. Or, comme nous savons que les conidies primaires et secondaires ne vivent que quelques jours, nous devons admettre que l'infection a été obtenue par les zygospores (2) renfermées dans les mouches desséchées.

(1) Les conidies primaires ayant une longévité d'une semaine au maximum, il est possible que l'infection ait été produite, soit par des œufs, soit par des conidies secondaires ou tertiaires à moins d'admettre une production continue de conidies primaires dans les cultures.

(2) Signalons qu'en 1888, A. Giard n'a pu infecter ni les larves, ni les adultes

Nous venons de constater les résultats parfois favorables obtenus dans des conditions expérimentales où il est possible de régler la température et l'humidité, facteurs essentiels du développement des champignons entomophytes. Les résultats que l'on pourra obtenir dans la nature, quand nous posséderons des méthodes pratiques de culture de ces champignons auxiliaires, ne seront certainement jamais très importants, étant donné ce fait que nous ne pourrons jamais régler les conditions climatiques favorables qui s'observent au cours de cycles plus ou moins longs et qui déterminent alors les épizooties relatées par divers auteurs. Dans le cas des moustiques que nous avons étudiés, il est probable, en raison de leur faible réceptivité, qu'une méthode prophylactique basée sur l'utilisation des champignons entomophytes donnerait des résultats bien aléatoires.

RÉSUMÉ

1. Nous avons récolté sur un certain nombre de cuves remplies de macérations de feuilles et de divers produits organiques, du 29 août au 30 septembre 1940, 105 *Culex pipiens*, dont 101 femelles et 4 mâles, et une femelle de *Theobaldia annulata*, tués par une entomophthorée, soit environ 5 p. 100 des moustiques ayant fréquenté nos pondoirs artificiels. Ce pourcentage plus élevé que celui obtenu dans nos expériences, est peut-être dû à un hydrotropisme déterminé par l'infection des moustiques. Il est bien établi en effet que les entomophthorées déterminent des comportements nouveaux chez de nombreux insectes.

2. L'étude morphologique et biologique de ce champignon nous a permis de décrire les courts fragments mycéliens sur lesquels naissent les conidiospores et les œufs (azygospores). Il est probable que des femelles infectées viennent déposer leurs œufs et meurent ensuite sur l'eau. Nous n'avons jamais trouvé de moustiques infectés sur des murs ou des arbres, et ceux que nous avons étudiés ne possédaient pas de crampons mycéliens.

de *Calliphora vomitoria* avec les œufs d'*Empusa muscivora* et que Brefeld (1877), en utilisant des chenilles de *Pieris brassicae*, qui s'infectent dans 80 p. 100 des cas avec des conidies d'*Empusa sphaerosperma*, n'a enregistré que des insuccès en se servant des zygospores de cette espèce.

Cependant ces insuccès doivent tenir à des conditions climatiques mal connues, car, dans la nature, les épizooties qui surviennent chez des insectes, des sauterelles particulièrement, tous les cinq ou six ans, ne peuvent avoir d'autre origine.

3. Une étude critique nous permet d'admettre que les six espèces d'entomophtorées suivantes ont été signalées sur des moustiques ; ce sont par ordre chronologique : *Empusa culicis* Braun, 1855 ; *Entomophthora sphaerosperma* Fresenius, 1856 ; *Empusa conglomerata* Sorokin, 1876 (*non* Thaxter, 1888) ; *Entomophthora rhizospora* Thaxter, 1888 ; *E. henrici* Molliard, 1918 ; *E. schrœteri* Brumpt, 1940 (= *Empusa rimosa* Schrœter *non* Sorokin, 1876).

4. L'espèce étudiée par nous correspond, pour la presque totalité de ses caractères, à l'*Entomophthora conglomerata* de Sorokin.

5. Au cours de nombreux essais d'infection de moustiques adultes et de larves, soit par la voie cutanée, soit par la voie buccale, et sur un total de 355 animaux, nous n'avons obtenu qu'un seul insecte parasité qui avait été infecté à l'état larvaire ; le pourcentage très faible d'infection expérimentale est donc de 0,28..

6. Après avoir donné un résumé des résultats obtenus par divers auteurs dans leurs expériences d'infestation, nous signalons combien l'utilisation des champignons entomophytes dans la nature est aléatoire, car les épizooties déterminées par ces germes sont cycliques et sous la dépendance de facteurs climatiques qu'il n'est pas en notre pouvoir de modifier.

BIBLIOGRAPHIE

Braun (A.). — *Algarum unicellularum genera nova et minus cognita*. Leipzig, 1855, p. 105.

Brefeld (O.). — Ueber die Entomophthoreen und ihre Verwandten. *Botan. Zeit.*, XXXV, juillet 1877, pp. 345-355 et 368-372.

Brumpt (E.). — *Précis de parasitologie*, 5e éd., Masson et Cie, édit., Paris, 1936 Généralités sur les champignons parasites, pp. 1572-1686.

— Entomophthorée pathogène pour divers moustiques de la Station expérimentale du domaine de Richelieu. *C. R. Acad. Sciences*, CCXI, 1940, p. 483.

Buller (A. H. R.). — *Researches on fungi*. I, Longmans, édit., Londres, 1909, p. 150.

Cohn (F.). — *Empusa muscae* und die Krankheit der Stubenfliegen. *Abhandl. Leop. Carol. Deutsch Akad. Naturf. Dresde. Nova Acta*, XXV, 1855, pp. 299-360.

Cornu (M.) et Brongniart (Ch.). — Sur une épidémie d'insectes diptères causée par un champignon. *Bull. Association Scientifique*, 2e série, n° 3, 1877.

Dustan (A. G.). — A study of the methods used in growing entomogenous fungi in cages prior to their artificial dissemination on orchards. *Ontario Dep. Agr.*, 55e *Rep. Entom. Soc.*, 1924, pp. 63-67.

Eidam (E.). — *Gegenwärtiger Standpunkt der Mykologie*, 1872, p. 155.

Eugling (M.). — Ueber Malariabekämpfung. Beobachtungen und Untersuchungen aus dem albanischen Malaria-Gebiet. *Beihefte Archiv. f. Schiffs-u. Trop. Hyg.*, XXV, 1921, p. 13.

Fresenius (G.). — Ueber die Pilzgattung *Entomophthora*. *Abhand. der Senkenbergischen Naturfors. Genel., Francfort*, II, 1858, p. 201, 1 pl.

Gaüman (E.) et Dodge (C. W.). — *Comparative morphology of fungi*. In-8°, 701 p. McGraw-Hill Book C°, New-York et Londres, 1928.

Giard (A.). — Deux espèces d'Entomophthorées nouvelles pour la flore française et présence de la forme *Tarichium* sur une Muscide. *Bull. sc. du dép. du Nord*, XI, 1879, p. 353.

— Sur quelques Entomophthorées. *Bull. sc. du dép. du Nord*, XIX, 1888, p. 298.

Graham-Smith (G. S.). — Observations on the habits and parasites of common flies. *Parasitology*, VIII, 1915-1916, pp. 440-544, 2 pl.

Gueguen (F.). — *Les champignons parasites de l'homme et des animauv*. Thèse d'Agrégation, Fac. de Pharmacie. Joanin et C^ie^, édit., Paris, 1904.

Hesse. — Parasitic mould of the house-fly. Information du *Brit. Med. Journ.*, janvier 1913, p. 41.

Howard (L. O.), Dyar (H. G.) et Knab (F.). — *The mosquitoes of North and Central America and the West Indies*. Carnegie Inst. Washington, Publ. 158, vol. I, 1912, p. 157, pl. VII, fig. 2.

Langeron (M.). — *Précis de Microscopie*. 5e éd., 1934, Masson et C^ie^, édit., Paris.

Lepesme (P.). — Influence de la température et de l'humidité sur la pathogénie de l'aspergillose des Acridiens. *C. R. Acad. Sc.*, CCVIII, 1939, p. 234.

Marshall (J. F.). — *The British Mosquitoes*. Londres, 1938, British Museum (Nat. history), p. 314.

Molliard (M.). — Épidémie d'*Empusa muscae* sur *Melanostoma (Syrphus) mellinum*, L. *Feuille des Jeunes Nat.*, juillet 1914.

— Sur la vie saprophytique d'une *Entomophthora* (*E. henrici* n. sp.). *C. R. Acad. Sciences*, CLII, 1918, p. 958.

Nowakowski (L.). — Entomophthoracées, etc. *C. R. de l'Acad. des Sc. de Cracovie*, 1883, pp. 153-183, 5 pl. (en polonais).

Petrishcheva (P. A.). — Biologie de la mouche domestique dans les conditions de la ville de Samara. *Mag. Paras. Inst. Zool. Acad. Sc. U. R. S. S.*, III, 1932, pp. 161-182 (En russe, avec un résumé allemand).

Pettit (R. H.). — Mosquitoes and other insects of the year 1902. *Mich. State Agric. Coll. Exp. Sta., Ent. Dep. Spec. Bull.*, XVII, 1903, 26 p.

Picard (F.). — *Les champignons parasites des insectes et leur utilisation agricole*. Coulet et fils, édit., Montpellier, 1914, p. 140.

Ramsbottom (J.). — An investigation of Mr. Hesse's work on the supposed relationship of *Empusa muscae* and *Mucor racemosus*. *Rep. Local Gov. Board on Public Health et Med. subjects*, CII, 1914, pp. 31-32.

Roubaud (E.). — Études sur les Stomoxes du Dahomey. *Bull. Soc. Path. Exot.*, IV, 1911, pp. 122-132.

— Recherches sur la fécondité et la longévité de la mouche domestique. *Ann. Inst. Pasteur*, XXXVI, 1922, pp. 765-783.

Sartory (A.). — *Champignons parasites de l'homme et des animaux*. Gr. in-8° de 895 p., 1922.

Sawyer (W. H.). — Observations on some entomogenous members of the Entomophthoraceæ in artificial culture. *Am. Journ. of Bot.*, XVI, 1929, pp. 87-121.

Schroeter (J.). — Pilze F. Cohn. *Kryptogamen-Flora von Schlesien*, III, 1885-1889, p. 217. Kern, édit., Breslau.

Skaife (S. H.). — The locust fungus, *Empusa grylli* and its effects on the host. *South Afric. Journ. Sc.*, xxii, 1925, pp. 298-308, 1 pl.

Smee (C.). — Notes on the red locust (*Nomadacris septemfasciata*) in Nyasaland, 1933-1934. *Bull. Ent. Res.*, xxvii, 1936, p. 32.

Sorokin (N.). — Ueber zwei neue Entomophthora-Arten. *Beitr. z. Biol. der Pflanzen heraus. von F. Cohn*, II, 1876, pp. 387-398, pl. XIII.

Speare (A. T.). — Fungi parasitic upon insects injurious to sugar cane. *Hawaian Sugar Planters Assoc. Exp. Sta.*, Bull. XII, 1912, pp. 14-37.

Speare (A. T.) et Colley (R. H.). — *The artificial use of the brown-tail fungus in Massachussets*, Boston, 1912, 31 p., 8 pl.

Speer (A. J.). — Compendium of the Parasites of Mosquitoes (Culicidæ). *Bull. U. S. Hyg. Lalb.*, Washington, n° 146, 36 p., 1927.

Thaxter (R.). — The Entomophthoreæ of the Unites States. *Mem. Boston Soc. of Nat. Hist.*, IV, 1888, pp. 133-193, 8 pl.

Vuillemin (P.). — Développement des azygospores chez les Entomophthorées. *Ass. Franç. Avanc. Sc.*, 29e session, Paris, 1900, pp. 670-685.

Institut de Parasitologie. Station expérimentale de Richelieu (I.-et-L.) et Laboratoire de Recherches de la Faculté de Médecine de Paris (Directeur : Professeur E. Brumpt).

Le Gérant : F. Amirault.

imprimé par barnéoud frères et cie a laval (france)